

Université de Montréal

La modulation transcriptionnelle du neuropeptide enképhaline par
les récepteurs nucléaires Nur77 et RXR γ

par

David Voyer

Université de Montréal

Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

en Sciences Pharmaceutiques

option Pharmacologie

décembre 2011

© David Voyer

Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

La modulation transcriptionnelle du neuropeptide enképhaline par
les récepteurs nucléaires Nur77 et RXR γ

Présenté par :

David Voyer

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Daniel Lévesque, directeur de recherche

Dr. Pierre-Paul Rompré, codirecteur

Dr. Marc Servant, membre du jury

Dr. Yan Burelle, membre du jury

Résumé

Certains neuropeptides (enképhaline et neurotensine) sont des modulateurs du système dopaminergique. Chez les rongeurs, le traitement avec l'antipsychotique typique halopéridol (antagoniste des récepteurs D2), augmente fortement leurs niveaux d'ARNm dans le striatum, une structure centrale du système dopaminergique qui contrôle l'activité locomotrice. Comme l'halopéridol est associé avec de nombreux effets secondaires moteurs, on peut penser que la modulation des neuropeptides est possiblement un mécanisme d'adaptation visant à rétablir l'homéostasie du système dopaminergique après le blocage des récepteurs D2. Cependant, le mécanisme moléculaire de cette régulation transcriptionnelle n'est pas bien compris. Nur77 est un facteur de transcription de la famille des récepteurs nucléaires orphelins qui agit en tant que gène d'induction précoce. Le niveau de son ARNm est aussi fortement augmenté dans le striatum suivant un traitement avec halopéridol. Plusieurs évidences nous suggèrent que Nur77 est impliqué dans la modulation transcriptionnelle des neuropeptides. Nur77 peut former des hétérodimères fonctionnels avec le récepteur rétinoloïde X (RXR). En accord avec une activité transcriptionnelle d'un complexe Nur77/RXR, l'agoniste RXR (DHA) réduit tandis que l'antagoniste RXR (HX531) augmente les troubles moteurs induits par un traitement chronique à l'halopéridol chez les souris sauvages tandis que ces ligands pour RXR n'ont aucun effet chez les souris Nur77 nulles. Nos travaux ont révélé que l'antagoniste RXR (HX531) réduit l'augmentation des niveaux d'enképhaline suivant un traitement chronique avec l'halopéridol. Nous avons ensuite démontré la liaison *in vitro* de Nur77 sur un élément de réponse présent dans le promoteur proximal de la proenképhaline, le peptide précurseur de l'enképhaline. Ces résultats supportent l'hypothèse que Nur77, en combinaison avec RXR, pourrait participer à la régulation transcriptionnelle des neuropeptides dans le striatum et donc contribuer à la neuroadaptation du système dopaminergique suivant un traitement aux antipsychotiques typiques.

Mots-clés : Enképhaline, striatum, dyskinésie tardive, Nur77, RXR γ , halopéridol.

Abstract

Neuropeptides (enkephalin and neurotensin) are modulators of dopaminergic system. In the rodent's striatum, antipsychotic drugs strongly modulate their mRNA levels. For example, haloperidol (D2 receptor antagonist) increases their mRNA levels in the striatum, a central structure of dopaminergic system that control locomotor activity. Since haloperidol is associated with many motor side effects, it is likely that neuropeptides modulation is a compensatory mechanism to restore the dopaminergic system homeostasis after D2 receptor blockade. However, molecular mechanism of this transcriptional regulation is not well understood. Nur77 is a transcription factor of the orphan nuclear receptor family that acts as an immediate early gene. In the striatum, its mRNA level is strongly increased following haloperidol treatment. Several evidences suggest that Nur77 is involved in neuropeptides transcriptional modulation. Nur77 can form functional heterodimers with retinoid X receptor (RXR). In agreement with a transcriptional activity of Nur77/RXR complex, RXR agonist (DHA) decreases while the RXR antagonist (HX531) exacerbates acute and chronic motor side effects of haloperidol treatment in wild type mice but remain without effect in Nur77 knockout mice. Our work shows that RXR antagonist (HX531) significantly reduced the increased levels of enkephalin following chronic treatment with haloperidol. We have set up the EMSA (electro-mobility shift assay) to demonstrate the *in vitro* binding of Nur77 on a responsive element from proenkephalin's proximal promotor. These results support the hypothesis that Nur77 could be involve in transcriptional modulation of neuropeptides in the striatum and thus, contribute to neuroadaptation of dopaminergic system after treatment with typical antipsychotic drugs.

Keywords : Enkephalin, striatum, tardive dyskinesia, Nur77, RXR γ , Haloperidol.

Remerciements

Durant toute la durée de mes études de deuxième cycle, j'ai eu la chance de bénéficier du support de nombreuses personnes, sans qui la réalisation de mes travaux et de cet ouvrage aurait été impossible.

Tout d'abord, j'aimerais remercier mon directeur de recherche, le Dr. Daniel Lévesque, pour tout ses conseils, son enseignement, sa confiance, les opportunités de congrès et surtout sa compréhension suite à ma disponibilité réduite dans les mois qui ont suivi la naissance de ma fille. J'aimerais aussi remercier mon codirecteur, le Dr. Pierre-Paul Rompré, également pour sa compréhension, mais aussi pour me permettre de poursuivre mes études au doctorat.

Merci à mes collègues, Jérôme Maheux, Souha Mahmoudi, Marc-Oliver Ratté, Émmanuelle Bourhis et Xavier Giner pour les discussions intéressantes ainsi que vos précieux conseils. Merci au Dr. Marc Servant pour ses conseils des plus pertinents ainsi qu'à tout le personnel de son laboratoire pour m'avoir permis de faire quelques expériences dans leur environnement. Je dois aussi remercier tout ceux qui fréquentent le local étudiant du 4^e ; Julie-Émilie H.M., Nicolas Bertrand, Simon Moreau, Marielle Doyon, Anne-Marie Bédard, Nicolas Montpas. Vos discussions scientifiques du midi m'ont dits... appris beaucoup de choses.

Merci à mes parents et à toute ma famille pour leur soutien et leurs valeurs. Je vous dois tout ce que je suis.

Merci à ma femme Nancy, pour son support, ses sacrifices, sa présence et finalement, merci à ma petite cocotte, qui m'a permis de découvrir ce qu'est réellement la vie. Sachez que ma plus grande fierté n'est pas d'avoir passé à travers la rédaction d'un mémoire... c'est plutôt d'être à vos côtés jour après jour.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Remerciements.....	v
Table des matières.....	vi
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures	ix
Liste des abréviations.....	xi
Chapitre I : Introduction générale	1
1.1 LA SCHIZOPHRÉNIE	1
1.1.1 Généralités	1
1.1.2 Symptômes et diagnostic de la schizophrénie	3
1.1.2.1 Les symptômes positifs.....	4
1.1.2.2 Les symptômes négatifs.....	6
1.1.2.3 Les symptômes cognitifs	8
1.1.2.4 Les désordres affectifs.....	9
1.1.3 Les causes de la schizophrénie	9
1.1.3.1 Hypothèse dopaminergique.....	10
1.1.3.2 Hypothèse glutamatergique.....	11
1.1.4 Le système dopaminergique	12
1.1.4.1 Les voies dopaminergique.....	12
1.1.4.2 Récepteurs de la dopamine	14
1.2 TRAITEMENTS DE LA SCHIZOPHRÉNIE	15
1.2.1 Les antipsychotiques typiques	16
1.2.1.1 Effets indésirables des antipsychotiques typiques.....	16
1.2.2 Les antipsychotiques atypiques	18
1.2.2.1 Effets indésirables des antipsychotiques atypiques.....	19
1.2.3 Autres traitements.....	22
1.2.3.1 Autres traitements pharmacologiques.....	22
1.2.3.2 Approches non pharmacologiques	22
1.3 Les ganglions de la base.....	24
1.3.1 Structure	24
1.4 Les troubles du mouvement.....	27
1.4.1 Les dérèglements des ganglions de la base	27
1.4.1.1 Maladie de Parkinson	27
1.4.1.2 Les dyskinésies	28
1.5 LES NEUROPEPTIDES	32
1.5.1 Les récepteurs opioïdes	33

1.5.2 Les peptides opioïdes	34
1.5.2.1 La β -endorphine.....	35
1.5.2.2 Les enképhalines.....	35
1.5.2.3 Les peptides dérivés de la prodynorphine	36
1.5.3 Les peptides et récepteurs opioïdes dans les voies directe et indirecte des ganglions de la base.	36
1.5.4 Autres peptides modulateurs des voies directe et indirecte des ganglions de la base.	38
1.5.4.1 La neurotensine et ses récepteurs	38
1.5.4.2 Substance P	39
1.6 LES FACTEURS DE TRANSCRIPTIONS	40
1.6.1 La famille des Nurs	40
1.6.1.1 Nur77	42
1.6.2 Le récepteur rétinoloïde X.....	44
1.7 HYPOTHÈSE DE RECHERCHE.....	46
1.8 OBJECTIFS	48
Chapitre II : Résultats	49
2.1 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	49
2.1.1 Animaux et traitements.....	49
2.1.2 Hybridation <i>in situ</i>	49
2.1.2.1 Préparation des sondes	50
2.1.2.2 Préhybridation.....	50
2.1.2.3 Hybridation	50
2.1.2.4 Post-traitement	51
2.1.2.5 Photographie et quantification du marquage	51
2.1.2.6 Analyses statistiques.....	52
2.1.3 Essai de retard sur gel	52
2.1.4 Synthèse de plasmides et de protéines recombinantes	53
2.1.5 Extraction de protéine à partir de tissu de cerveaux.....	54
2.1.6 Anticorps utilisés.....	54
2.2 RÉSULTATS.....	55
2.2.1 Analyse <i>in silico</i> de la séquence du promoteur proximal de la proenképhaline	56
2.2.2 Mise au point de la technique d'essai de retard sur gel	57
2.2.3 Nur77 se lie <i>in vitro</i> à un élément de réponse potentiel présent dans le promoteur proximal de la proenképhaline mais ne semble pas former d'hétérodimères avec RXR γ sur ce même élément de réponse.....	64
2.3.4 Un antagoniste RXR (HX531), réduit l'augmentation des niveaux de proenképhaline par halopéridol dans le striatum.....	67
Chapitre III : Discussion et perspectives.....	69
Nur77/RXR et le promoteur de l'enképhaline.....	69
Nur77/RXR et expression de l'enképhaline : rôle dans la modulation des dyskinésies.....	73
Références	77

Liste des tableaux

Tableau I : *Affinité relative de quelques antipsychotiques typiques pour différents récepteurs (p.17).*

Tableau II : *Liste partielle des effets secondaires des antipsychotiques typiques les plus couramment utilisés (p.18).*

Tableau III : *Affinité relative de quelques antipsychotiques atypiques pour différents récepteurs (p.20).*

Tableau IV : *Liste partielle des effets secondaires des antipsychotiques atypiques les plus couramment utilisés (p.21).*

Liste des figures

Figure 1 : Représentation des principales voies dopaminergiques du cerveau de rongeur (p.13).

Figure 2 : Schéma simplifié des principales interactions fonctionnelles entre les noyaux qui composent les ganglions de la base (p.26).

Figure 3 : Les éléments de réponse pour la famille des Nurs (p.41).

Figure 4 : Schéma des interactions Nur77/RXR pouvant moduler l'activité transcriptionnelle (p.43).

Figure 5 : Analyse *in silico* de la séquence du promoteur proximal de la proenképhaline (p.56).

Figure 6 : Séquences du brin sens des différents oligonucléotides utilisés dans les essais de retard sur gel (p.57).

Figure 7 : Explication du choix de l'extrait protéique qui sera utilisé pour les expériences subséquentes (p.58.).

Figure 8 : Signal non spécifique causé par les protéines endogène du kit de synthèse *in vitro* (TNT) (p.59).

Figure 9 : Détermination de l'anticorps le plus efficace pour effectuer les essais de « supershift » (p.60).

Figure 10 : Effets de la température d'incubation sur la liaison aux sondes radiomarquées des diverses protéines contenues dans les extraits de Nur77 synthétisé *in vitro* (p.61).

Figure 11 : Effet de la concentration en $MgCl_2$ sur la liaison aux sondes radiomarquées des diverses protéines contenues dans les extraits de Nur77 synthétisé *in vitro* (p.62).

Figure 12 : Formation *in vitro* d'hétérodimères Nur77/RXR γ se liant à un élément de réponse DR-5 (p.63).

Figure 13 : Liaison de Nur77 à un élément de réponse potentiel situé -730 bases en amont du site de l'initiation de la transcription du gène de la proenképhaline (p.64).

Figure 14 : Nur77 ne semble pas former d'hétérodimères avec RXR γ sur leurs éléments de réponse potentiels situés dans le promoteur proximal de la proenképhaline (p.65).

Figure 15 : Représentation schématique des régions sélectionnées pour l'analyse quantitative de l'expression de l'ARNm de la proenképhaline (p.66).

Figure 16 : Diminution de l'augmentation du niveau d'ARNm de l'enképhaline par halopéridol lors d'un traitement chronique avec l'antagoniste RXR HX531 (p.67).

Liste des abréviations

5-HT : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine

ACTH : *Adrenocorticotropic hormone*

ADNc : ADN complémentaire

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

CATIE : *Clinical Antipsychotic Trials in Intervention Effectiveness*

COMT : Catécholamine-O-méthyltransférase

CUTLASS : *Cost Utility of the Latest Antipsychotic drugs in Schizophrenia Study*

DBD : DNA-binding domain

DEPC : Diéthyl pyrocarbonate

DHA : Acide docosahexaénoïque

DISC1 : *Disrupted in schizophrenia genes 1*

DSM-IV : *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders version IV*

DTNBP1 : Dysbindin 1

DTT : Dithiothréitol

DYN : Dynorphine

eGFP : Enhanced green fluorescent protein

EMSA : *Electromobility shift assay*

ENK : Enképhaline

FDA : *Food and Drug Administration*

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GAD1 ou GAD67 : Glutamate décarboxylase 1

GPCR : *G protein-coupled receptors*

GPe : *Globus pallidus* externe

GPI : *Globus pallidus* interne

ICD-10 : *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision*

LBD : *Ligand-binding domain*

LDCV : Vésicules à cœur dense

LIDS : *Levodopa induced dyskinesia*

MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MSH : Melanocyte stimulating hormone

Nac : Noyau accumbens

NBRE : *NGFI-B responsive element*

NGFI-B : Nur77

NMDA : Acide N-méthyl-D-aspartique

NuRE : *Nur-responsive element*

PBS : *Phosphate buffered saline*

PCP : Phéncyclidine

PCR : Polymerase chain reaction

POMC : Pro-opiomélanocortine

RAR : Récepteur de l'acide rétinoïque

RT : Reverse transcriptase

RXR : Récepteur X des rétinoïdes

SNAP25 : Synaptosomal-associated protein 25

SNc : Substance noire compacte

SNr : Substance noire réticulée

SP : Substance P

SSC : Saline sodium citrate

St.L : Striatum latéral

St.M : Striatum médian

STN : Noyau sous-thalamique

TEA : Triéthanolamine

VCM : *Vacuous chewing movements*

VMAT2 : *Vesicular monoamine transporter 2*

VTa : Aire tegmentaire ventrale

Chapitre I : Introduction générale

1.1 LA SCHIZOPHRÉNIE

1.1.1 Généralités

La schizophrénie est un désordre mental sévère et chronique dont la prévalence globale varie entre 0,5 et 1 % (Nestler et al., 2009). Ses symptômes apparaissent généralement à l'adolescence ou au début de l'âge adulte chez l'homme et sont retardés de 3 à 5 ans en moyenne chez la femme. Son pronostic qui dépend de nombreux facteurs est généralement meilleur chez, les habitants de pays en voie de développement, les femmes, si le début des symptômes survient à un âge tardif et lorsque le sujet atteint bénéficie d'un bon réseau social de support (Jablensky, 2000). Les patients ayant un diagnostic de schizophrénie ont une espérance de vie de 12 à 15 ans plus courte que la population moyenne. Cette observation est expliquée par une augmentation du risque de suicide et une exposition accrue à certains facteurs de risque comme une diète pauvre, la sédentarité, le tabagisme et l'abus de drogue (van Os and Kapur, 2009). Les comorbidités psychiatriques incluant, la dépression, les troubles obsessionnels compulsifs et l'abus d'alcool et/ou de drogues, sont fréquentes chez les patients schizophrènes ce qui contribue à en augmenter les coûts et complique le traitement (Buckley et al., 2009). La schizophrénie constitue une cause majeure d'incapacité chez l'humain et son fardeau social et économique est très important. On estime qu'en 2002, aux Etats-Unis, les coûts directs de la maladie (médicaments, soins professionnels, hospitalisation) et indirects (perte de productivité, chômage, mortalité prématurée) s'élevaient à 62 milliards de dollars (Goeree et al., 2005). Le fardeau de la schizophrénie est aussi aggravé par les difficultés de réinsertion dans la société des personnes atteintes ainsi que l'incompréhension et la peur que cette maladie suscite au sein de la population générale (Pescosolido et al., 1999). Ces difficultés favorisent une isolation sociale des

schizophrènes dont la conséquence directe est leur présence en grand nombre chez les sans abris.

Bien que la maladie ait probablement toujours existée, les premiers cas décrits remontent au tournant du XIX^e siècle. En 1853, Bénédict Morel décrit un syndrome atteignant les adolescents et les jeunes adultes qu'il nommât démence précoce. Ce n'est qu'en 1893 par l'entremise d'Emil Kraepelin qu'une distinction entre les troubles de l'humeur telle la dépression et la démence précoce fut établie. Le terme schizophrénie, qui provient des mot grec « *schizo* », (séparé) et « *phrénia* » (esprit), à été utilisé pour la première fois par Eugen Bleuler, en 1908, après avoir observé une amélioration de la condition de certains de ses patients plutôt qu'une détérioration. Le terme démence devint alors inapproprié pour décrire la maladie dont les principaux signes cliniques était une perception erroné d'un monde irréel ainsi que des pensées et discours désorganisés. Jusqu'au milieu du XX^e siècle, les patients étant diagnostiqués schizophrènes étaient la plupart du temps internés dans des hôpitaux psychiatriques car les seuls traitements disponibles étaient l'électroconvulsivothérapie et les neurochirurgies. C'est alors que l'avènement de la chlorpromazine (le premier antipsychotique), vint révolutionner le traitement des patients et permit une désinstitutionalisation massive.

Cependant, plus d'un siècle après sa description initiale, la schizophrénie demeure non seulement incomprise par la population, mais aussi par la communauté scientifique, ce qui explique que le traitement principal a très peu évolué depuis 50 ans et comporte de nombreux effets adverses. Une meilleure compréhension des mécanismes d'actions des divers traitements pharmacologiques ainsi que de la pathologie elle même est toujours nécessaire et cruciale à l'amélioration du pronostic des personnes atteintes afin de réduire l'énorme fardeau économique et social qui en découle.

1.1.2 Symptômes et diagnostic de la schizophrénie

Les symptômes de la schizophrénie ne suivent pas un patron de développement progressif et apparaissent de façons variables selon le patient. Une période prodromale, où l'on peut parfois observer de légers déficits moteurs et émotionnels, précède habituellement l'apparition des symptômes. Durant l'enfance ou le début de l'adolescence, plusieurs individus montrent des déficits cognitifs qui impliquent la mémoire, l'attention et le traitement des informations. Par la suite, certains cas subiront des épisodes psychotiques subtils avec ou sans détérioration de leur condition alors que d'autres seront atteints de psychoses aiguës. La maladie peut ensuite évoluer soit, vers d'autres épisodes de psychose à intervalle variable, ou bien vers une rémission partielle ou complète. Une amélioration peut survenir à long terme pour certains patients. Certains demeureront stables avec des symptômes continus et d'autres éprouveront un déclin cognitif rapide et important (Thaker and Carpenter, 2001).

En clinique, l'identification des hallucinations et délires lors d'une psychose est relativement simple, mais leurs classifications se révèlent parfois beaucoup plus difficile. Les psychoses ne sont pas uniques à la schizophrénie et peuvent survenir dans certains cas de trouble bipolaire, de dépression majeure et peuvent aussi être induites par l'abus d'alcool ou de certaines drogues. Les cliniciens se réfèrent actuellement au manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-V) ou à la classification internationale des maladies (ICD-10) afin de diagnostiquer la schizophrénie. L'analyse des caractéristiques psychopathologiques des désordres psychotiques permet de classer les symptômes observés dans quatre principales catégories soit; (1) les psychoses (délire et hallucination) aussi appelées symptômes positifs, (2) la perte d'initiative et de volition (manque de motivation et retrait social) désigne les symptômes négatifs, (3) les altérations neurocognitives (difficulté de mémorisation et perte d'attention) et (4) une dérégulation affective qui peut mener à

des comportements caractéristiques de la dépression ou du trouble bipolaire (van Os and Kapur, 2009).

1.1.2.1 Les symptômes positifs

Parmi la diversité des symptômes de la schizophrénie, ceux dit positifs sont certainement les plus visibles, les plus spectaculaires et effrayants pour la population générale. Le terme positif leur a été associé parce qu'il désigne des traits qui sont absents chez les individus normaux. Les symptômes positifs comprennent les hallucinations, les illusions, les délires et une pensée désorganisée. Ils sont présentement expliqués par des perturbations de l'activité dopaminergique dans certaines structures limbique du cerveau, structures contrôlant entre autre les émotions ainsi que l'intégration des stimuli (Stahl, 2004, Fletcher and Frith, 2009). On les associe principalement à une hyperactivité de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens (Nac) (Guillin et al., 2007).

Les hallucinations sont des perceptions sensorielles ressenties en l'absence d'un stimulus externe. Ils peuvent survenir sous la forme d'hallucinations auditives, visuelles ou sensorielles. Les hallucinations auditives sont les plus fréquentes. Les voix entendues peuvent être neutres mais dans bien des cas, elles sont agressives, menaçantes, violentes et peuvent pousser l'individu à accomplir des tâches dangereuses pour lui même. La théorie généralement acceptée de nos jours est qu'un dérèglement dans la décharge corollaire serait la source des hallucinations auditives et sensorielles (Fletcher and Frith, 2009). Brièvement, la décharge corollaire est un influx produit par les commandes motrices qui est utilisé par le cortex sensoriel afin d'anticiper les stimuli subséquent et donc d'en diminuer l'importance. Ce mécanisme permet de distinguer les stimuli provenant de l'extérieur à ceux qui sont produit par nous même. Donc, les hallucinations auditives proviendraient de la subvocalisation de l'individu même alors que les hallucinations sensorielles tactiles seraient issues de

mouvements également commandés par lui même. Pour appuyer cette théorie, plusieurs études démontrent une augmentation de l'activité de l'aire de Broca (zone du lobe frontal, responsable de la production du langage) durant les épisodes d'hallucinations auditives chez des schizophrènes (McGuire et al., 1993, Allen et al., 2008). L'origine des hallucinations visuelles semble par contre plus complexe et il n'y a pas de consensus à leur égard. Cependant, il semble que les schizophrènes montrent certaines difficultés à distinguer les images réelles de celles provenant de leur imagination (Aleman et al., 2003, Collerton et al., 2005).

Les illusions sont parfois confondues avec les hallucinations car leur différence est subtile. Les illusions sont des déformations de stimuli externes qui existent vraiment. Par exemple, lorsqu'un patient voit un objet bouger alors qu'il est en réalité stationnaire, il s'agit d'une illusion alors que s'il voit un objet qui n'existe pas, il s'agit d'une hallucination. Leur cause intrinsèque est possiblement, comme les hallucinations, une dysfonction de la décharge corollaire, qui surviendrait lors des mouvements oculaires, donnant l'impression que les objets bougent. Une autre hypothèse émergente consiste en une dysfonction dans l'interprétation des stimuli visuels. Il existe en effet, deux niveaux d'intégration de ces mêmes stimuli soit, de bas en haut (la réception de l'influx nerveux provenant de l'œil) et de haut en bas (l'interprétation de ce même influx nerveux). L'intégration de haut en bas est influencée entre autre, par le contexte environnemental et la logique (Fletcher and Frith, 2009). Les schizophrènes présentent des anomalies dans l'interprétation des stimuli ce qui a pour effet que ceux-ci sont souvent « immunisés » contre certaines illusions optiques courantes (Pessoa et al., 2008). Cette dernière caractéristique est d'ailleurs parfois utilisée pour aider le clinicien à établir son diagnostic.

Les délires sont des fausses croyances qui vont à l'encontre de toute logique. Ils résultent souvent de l'observation par le patient d'un événement extérieur tout à fait banal. Suite à ses observations et la prise de décision (interprétation) qui s'en suit,

l'individu va alors conclure certaines choses qui deviendront pour lui des certitudes absolues. Les schizophrènes, qui montrent des déficits dans la prise de décision montrent généralement aussi une confiance excessive en leurs conclusions (Warman, 2008). Cette confiance les empêche alors de remettre en question les fausses croyances en étant issues (Nestler et al., 2009). Ces fausses croyances sont la plupart du temps bizarres comme par exemple, croire que les dents d'un individu contiennent des radio émetteurs recevant des messages de l'espace, avoir l'impression d'être espionné et persécuté, voir des messages le visant dans les journaux, médias ou autres supports, ainsi que de croire que tout les gens l'entourant peuvent lire dans ses pensées. Un défaut dans le processus de « *salience* » (la sélection par le cerveau des stimuli extérieurs importants à interpréter *vs* ceux qui ne le sont pas) chez les schizophrènes, est probablement la cause primaire des délires en attirant leur attention sur les mauvais éléments de leur environnement ce qui altère ensuite leur prise de décision (Hemsley and Garety, 1986, Kapur, 2003)

La désorganisation de la pensée donne souvent lieu à un discours désordonné et incompréhensible de la part du patient. Il peut par exemple passer d'un sujet à l'autre à l'intérieur d'une même phrase en plus d'utiliser des mots inventés dont lui seul connaît la signification. Ce type de discours peut donner l'impression à l'entourage de l'individu qu'il présente des signes de toxicomanie qui s'ajoute à l'incompréhension et aux préjugés dont il peut être victime avant l'établissement de son diagnostic.

1.1.2.2 Les symptômes négatifs

Le terme négatif est utilisé pour désigner une perte des fonctions psychologiques normales. Ces symptômes incluent, l'affect plat, le manque de motivation ou de volition, l'appauvrissement du langage et l'isolement social. Puisque ces symptômes affectent l'interaction du patient avec la société, l'évaluation de leur développement

procure une grande valeur prédictive pour le pronostic des effets à long terme de la maladie ce qui n'est pas le cas avec les symptômes positifs (Thaker and Carpenter, 2001). Contrairement aux symptômes positifs, associés à une hyperactivité de la transmission dopaminergique, les symptômes négatifs seraient plutôt associés à une baisse de la transmission dopaminergique dans le cortex préfrontal, orbitofrontal et cingulaire (Knable and Weinberger, 1997, Semkowska et al., 2001, Guillin et al., 2007). Par conséquent, le traitement usuel de la schizophrénie par des antipsychotiques typiques procure une amélioration des symptômes positifs, mais ne procure pas d'effets sur les symptômes négatifs alors que les antipsychotiques atypiques corrigent les symptômes positifs et ont un effet modeste sur les symptômes négatifs (King, 1998, Nestler et al., 2009).

L'affect plat se manifeste par une absence de réactivité émotionnelle de la part de l'individu qui est alors dans l'impossibilité d'exprimer le moindre sentiment de façon verbale ou non (Stein et al., 2007). Les gestes expressifs ainsi que les expressions faciales sont absentes. Ce symptôme est de mauvais pronostic en ce qui a trait à la qualité de vie future du patient car l'incapacité d'avoir une certaine forme de contact émotionnel avec celui-ci peut devenir une source de frustration pour son entourage et sa famille.

La motivation et la volition désigne des aspects du processus cognitif par lequel un individu prend la décision d'effectuer un acte dans un but quelconque pour ensuite effectuer ce même acte. L'avolition peut se traduire par une incapacité à entreprendre une action par volonté. Le manque de motivation est quand à lui distinct du simple désintérêt ou de l'anhédonie. Un patient peut vouloir effectuer certaines tâches mais simplement manquer de motivation pour les initier ou pour les compléter.

La pauvreté du langage est un manque d'information additionnelle formulée par le patient lors d'une discussion normale. Le type de réponse donné à une question par le patient consiste à répondre le strict minimum (oui, non) sans élaborer d'avantage. Une personne normale soutenant une conversation avec un schizophrène aura alors l'impression que celui-ci est soit très timide, ou bien n'est tout simplement pas intéressé à entamer une discussion.

L'isolation sociale est souvent le résultat des autres symptômes négatifs. Comme ces symptômes affectent les interactions sociales des schizophrènes, ces derniers se retrouvent alors isolé par désintérêt envers la société mais aussi par un désintérêt de la société envers eux. La paranoïa les habitant durant leurs délires est un facteur accélérant drastiquement le processus de retrait social puisqu'elle peut causer une perte de confiance injustifiée envers leur entourage.

1.1.2.3 Les symptômes cognitifs

Les anomalies des fonctions cognitives sont une des composantes importantes de la schizophrénie. Étonnamment, peu d'intérêt leur a été accordé jusqu'à il y a tout juste une vingtaine d'années. L'étendue de ces déficits a, tout comme les symptômes négatifs, une bonne valeur prédictive sur l'évolution à long terme de la maladie ainsi que sur la qualité de vie du patient (Barch, 2005). Ils sont souvent présents dans les stades les plus précoces de la phase prodromale du développement de la schizophrénie, bien avant le premier épisode de psychose (O'Donnell, 2007). Ces déficits affectent l'intégration sensorielle, l'attention, l'apprentissage, la mémoire de travail ainsi que certaines habiletés motrices (Bombin et al., 2005). Une diminution de l'activité dopaminergique du cortex préfrontal serait responsable des dysfonctions cognitives (Stahl, 2004); on a supposé récemment que l'hyper dopaminergie du striatum pourrait aussi jouer un rôle dans l'apparition de ces symptômes (Simpson et

al., 2010). Malheureusement, les antipsychotiques typiques et atypiques n'ont respectivement, pas ou peu d'effets sur cette catégorie de symptômes.

1.1.2.4 Les désordres affectifs

La somme de tous les symptômes mentionnés précédemment peuvent dans bien des cas, mener à des dérégulations affectives qui à leur tour se manifesteront par des risques accrus pour l'apparition de symptômes dépressifs ou du trouble bipolaire (van Os and Kapur, 2009). Ces perturbations de l'humeur sont probablement les principales causes de suicide chez les schizophrènes, qu'ils commettront avec succès dans une proportion de 10% (Siris, 2001). Certaines études ont tenté de démontrer certains effets bénéfiques de la clozapine (antipsychotique atypique) sur le taux de suicide des patients (Meltzer et al., 2003). Cependant, ces études sont sujettes à une certaine controverse car quelques biais méthodologiques ont été soulevés (De Hert et al., 2010).

1.1.3 Les causes de la schizophrénie

Les causes de la schizophrénie demeurent mal comprises car son origine est vraisemblablement multifactorielle. Une des hypothèses les plus en vogue de nos jours fait appel à une composante neurodéveloppementale anormale dans laquelle une combinaison de différents facteurs environnementaux et génétiques qui surviennent avant la maturation anatomique pré et périnatale du cerveau (Rapoport et al., 2005). Cette théorie est intéressante car elle suppose que différentes insultes affectant le développement neurologique en bas âge causent certaines dysfonctions (phase prodromale du développement de la maladie) et que ces anomalies sont exacerbées lors de la maturation au stade adulte du système nerveux central, expliquant la raison de l'apparition des principaux symptômes psychotiques à la fin de l'adolescence. Les

facteurs environnementaux comprennent par exemple, certaines complications obstétriques ou périnatales (hypoxie, hémorragie périventriculaire, réaction immunitaire suite à un contact avec un virus) (Fatemi and Folsom, 2009) et les facteurs génétiques comprennent plusieurs gènes de susceptibilité dont la COMT (enzyme dégradant les catécholamines), DTNBP1 (dont la mutation affecte l'expression de SNAP25, qui compose les vésicules de la dopamine), DISC1 (Disrupted in schizophrenia) et GAD1 (décarboxylase de l'acide glutamique qui est l'enzyme synthétisant le neurotransmetteur GABA).

Les facteurs mentionnés précédemment mènent à diverses atteintes affectant le fonctionnement de plusieurs systèmes de neurotransmetteurs dont les principaux sont le glutamate, la dopamine, la sérotonine et le GABA. Ces systèmes étant en constante interaction, deux hypothèses principales se complètent afin d'expliquer les manifestations pathologiques de la schizophrénie.

1.1.3.1 Hypothèse dopaminergique

Dans le contexte de la schizophrénie, le système dopaminergique est celui ayant reçu le plus d'attention à ce jour. Même si l'hypothèse dopaminergique date de plus de 50 ans, elle est toujours largement acceptée par la communauté scientifique. Elle propose que l'hyperactivité de la transmission dopaminergique de la voie mésolimbique soit responsable des symptômes positifs de la schizophrénie. Les principales observations la supportant proviennent principalement des effets de différents traitements pharmacologiques. Par exemple, il existe une corrélation entre les doses cliniques d'antipsychotiques et leur capacité à bloquer les récepteurs D2 de la dopamine (Creese et al., 1976). De plus, les drogues augmentant les niveaux extracellulaires de dopamine (amphétamine, cocaïne) peuvent potentiellement causer des psychoses chez les sujets sains ou les exacerber chez les sujet schizophrènes (Laruelle et al., 1996, Yui et al., 2000, Guillin et al., 2007).

Par la suite, l'absence d'amélioration des symptômes cognitifs et négatifs suite à un traitement avec des antagonistes des récepteurs D2 a mené à quelques modifications de l'hypothèse originale puisque ces derniers symptômes étaient vraisemblablement causés par un mécanisme distinct. Des études fonctionnelles d'imagerie cérébrale ont suggéré que ces symptômes étaient plutôt causés par un déficit dans la neurotransmission dopaminergique du cortex préfrontal. Une régulation réciproque et opposée entre les parties corticales et sous-corticales du système dopaminergique a été décrite par plusieurs équipes venant ainsi appuyer cette hypothèse (Tzschentke, 2001). En résumé, selon l'hypothèse dopaminergique, les symptômes positifs de la schizophrénie sont associés à une augmentation de l'activité dopaminergique dans le noyau accumbens alors que les symptômes négatifs sont plutôt associés à une diminution de l'activité dopaminergique dans le cortex. Il faut toutefois garder à l'esprit que cette hypothèse est basée principalement sur des évidences pharmacologiques. Donc, même si la modulation d'un système de neurotransmetteur (dopamine) améliore ou exacerbe les symptômes psychotiques, il est possible que ce même système ne soit pas nécessairement la cause principale de la maladie (Nestler et al., 2009).

1.1.3.2 Hypothèse glutamatergique

L'hypothèse glutamatergique provient elle aussi d'observations pharmacologiques. Il a été observé que les drogues qui bloquent les récepteurs NMDA du glutamate (PCP, kétamine, MK-801) causent des symptômes semblables aux psychoses (hallucinations auditives et visuelles) de façon dose dépendante en plus d'engendrer des manifestations semblables aux symptômes négatifs et cognitifs (Javitt and Zukin, 1991). Comme ces symptômes ne sont pas causés par la modulation du système dopaminergique, ils ne sont pas diminués par les antagonistes des récepteurs D2. Par contre, les antipsychotiques de seconde génération se sont avérés efficaces pour traiter les symptômes psychotiques secondaires au blocage des récepteurs NMDA ((Davis and American College of Neuropsychopharmacology, 2002) chapitre

50)(Malhotra et al., 1997). Le modèle glutamatergique de la schizophrénie n'est pas confiné à un circuit neuronal en particulier et, comme le glutamate est le neurotransmetteur excitateur principal du cerveau, son interprétation demeure quelque peu hasardeuse. Cette hypothèse devra donc être davantage caractérisée en tenant compte de l'interaction du système glutamatergique avec les autres systèmes de neurotransmetteurs.

1.1.4 Le système dopaminergique

Les neurones qui produisent la dopamine sont relativement peu nombreux en proportion du nombre total de neurones du cerveau ($<1/100000$ neurones), pourtant, ils jouent un rôle important dans la régulation des fonctions normales du cerveau. Ils sont impliqués dans les fonctions motrices, la motivation, la mémoire de travail, l'acquisition de comportement répétitif ainsi que l'effet de récompense aux stimuli naturels (nourriture, sexe, drogues d'abus). Le dérèglement du système dopaminergique est impliqué dans plusieurs pathologies comme la maladie de Parkinson, l'addiction aux drogues, les comportements compulsifs, le déficit d'attention et désordre hyperactif et bien sur, la schizophrénie (Girault and Greengard, 2004). Les projections des neurones dopaminergiques issus du mésencéphale ventral se subdivisent en trois voies principales.

1.1.4.1 Les voies dopaminergique

La première voie de projection du système dopaminergique est la voie nigro-striée. Ces neurones dopaminergiques proviennent de la substance noire compacte (SNc) et innervent le striatum (fig. 1). La dégénérescence de ces neurones est responsable des symptômes moteurs observés dans la maladie de Parkinson. Les niveaux de dopamine du striatum sont donc importants dans le contrôle ainsi que l'apprentissage moteur (Hornykiewicz, 1973, Packard and Knowlton, 2002).

Les deuxièmes et troisièmes voies de projection du système dopaminergique sont les voies méso-corticale et méso-limbique (fig. 1). Leurs neurones dopaminergiques prennent origine dans l'aire tegmentaire ventrale (VTA). La voie méso-corticale projette dans le cortex préfrontal, entorhinal et cingulaire antérieur. Le cortex constitue le centre de la cognition et son tonus dopaminergique est primordial pour maintenir ses fonctions cognitives normales. La voie méso-limbique envoie des projections dopaminergiques dans les structures du système limbique tel que le noyau accumbens, le tubercule olfactif, l'amygdale et l'hippocampe et est impliquée dans l'organisation des comportements motivés et la recherche de récompense. Son dysfonctionnement est aussi une des causes principales des manifestations psychotiques de la schizophrénie selon l'hypothèse dopaminergique (Goto and Grace, 2007).

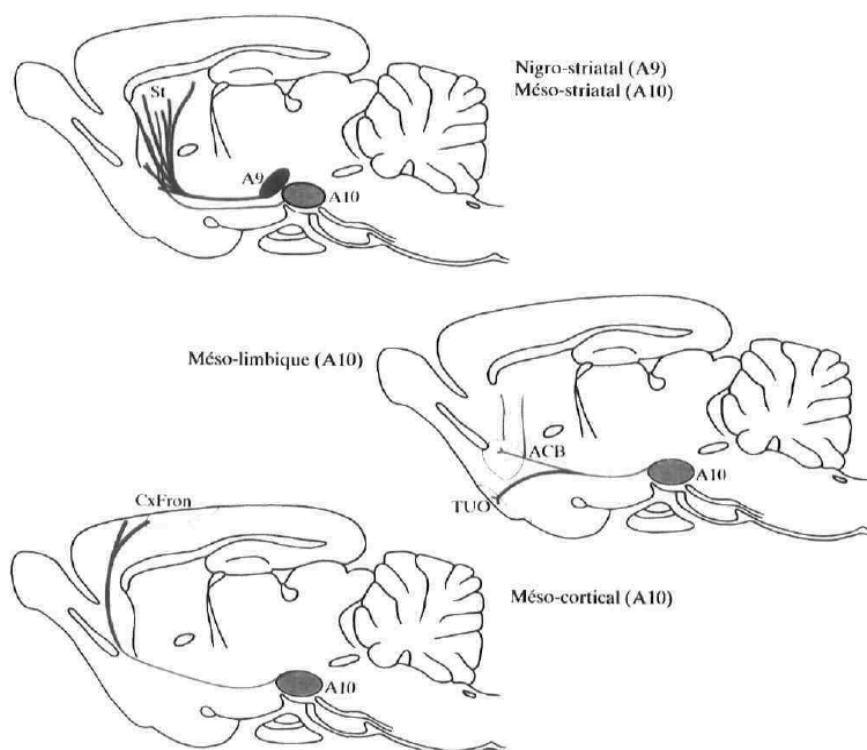


Figure 1 : Représentation des principales voies dopaminergiques du cerveau de rongeur. A9; substance noire compacte, A10; aire tegmentaire ventrale. (tirée du livre *Neuropeptides et Neuromédiateurs* (2e édition), 1995, les éditions INSERM, p. 98)

1.1.4.2 Récepteurs de la dopamine

Contrairement aux neurotransmetteurs classiques excitateurs ou inhibiteurs comme le glutamate ou l'acide γ -aminobutyrique (GABA), la dopamine ne provoque pas la dépolarisation ou l'hyperpolarisation directe du neurone postsynaptique en agissant sur des canaux ioniques. Elle possède plutôt des fonctions modulatrices médiées par ses récepteurs qui sont couplés aux protéines G. Ces récepteurs se divisent en deux groupes soit, la famille des récepteurs de type D1 composée des récepteurs D1 et D5, et la famille de type D2 composée des récepteurs D2, D3 et D4. Les récepteurs de la famille des D1 sont couplés à des protéines G activatrices (G_s , G_{olf}) qui augmentent la production d'AMP cyclique (AMPc) tandis que les récepteurs de type D2 sont plutôt couplés à des protéines G inhibitrices (G_i/G_o) qui inhibent la production d'AMPc (Neve et al., 2004). Ces deux types de récepteurs se retrouvent en densité importante dans plusieurs noyaux sous corticaux faisant parties des ganglions de la base (striatum, globus pallidus, noyau sous-thalamique et substance noire). (Voir section 1.3) (Valjent et al., 2009).

1.2 TRAITEMENTS DE LA SCHIZOPHRÉNIE

Le traitement pharmacologique de la schizophrénie pris un essor considérable au début des années 50 grâce à la découverte de la chlorpromazine, la première molécule pouvant traiter les psychoses de cette maladie avec une certaine efficacité. Cette molécule a ensuite servi de base pour la synthèse d'autres composés pharmacologiques ayant aussi des effets antipsychotiques. Les premiers antipsychotiques, bien qu'ils révolutionnaient le traitement de la schizophrénie, soulevèrent rapidement certaines inquiétudes à cause de leurs nombreux effets secondaires (Kane and Correll, 2010). Ensuite, la découverte de molécules possédant un profil clinique d'effets secondaires différent des premiers antipsychotiques amena les cliniciens à diviser les drogues utilisées pour traiter les psychoses en deux grandes familles, les antipsychotiques typiques (de première génération), et atypiques (de deuxième génération) (Meltzer et al., 1989, Ramachandraiah et al., 2009). Ils ont en commun la capacité de bloquer les récepteurs dopaminergiques D₂ (Stockmeier et al., 1993) appuyant ainsi l'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie. Malheureusement, les traitements avec les antipsychotiques atypiques provoquent eux aussi de nombreux effets indésirables ce qui rend nécessaire le développement de nouvelles stratégies plus efficaces. De plus, si les traitements actuels ont une certaine efficacité pour traiter les psychoses (symptômes positifs), ils ont malheureusement un effet limité sur les autres symptômes (symptômes négatifs et cognitifs) (Kapur and Remington, 2001).

D'autres méthodes de traitements non pharmacologiques utilisées en combinaison avec la médication conventionnelle peuvent avoir des effets bénéfiques. Elles comprennent entre autres; les thérapies psychosociales et l'électroconvulsivothérapie (Davis and American College of Neuropsychopharmacology, 2002).

1.2.1 Les antipsychotiques typiques

Les antipsychotiques typiques, ou de première génération, sont les premières drogues à avoir été utilisées efficacement dans le traitement de la schizophrénie. Encore aujourd'hui, même si leur découverte remonte à plus de 50 ans, ils constituent près du tiers des prescriptions aux États-Unis (Aparasu and Bhatara, 2006). Leurs effets thérapeutiques proviennent principalement du blocage des récepteurs dopaminergiques D₂ dans le noyau accumbens (Creese et al., 1976, Guillin et al., 2007) et l'on peut prédire le potentiel antipsychotique d'une molécule par son affinité pour ces récepteurs. L'utilisation clinique des antipsychotiques typiques est sévèrement limitée par la gravité des nombreux effets secondaires qu'ils provoquent, (Nestler et al., 2009) ce qui explique leur remplacement par les antipsychotiques atypiques même si ces derniers sont beaucoup plus coûteux (Alessi-Severini et al., 2008).

1.2.1.1 Effets indésirables des antipsychotiques typiques

L'efficacité des antipsychotiques typiques est optimale lorsque l'occupation des récepteurs de la dopamine D₂ du striatum est de l'ordre de 60-70%, niveau au delà duquel peuvent apparaître deux des principaux effets indésirables du traitement; les troubles moteurs (aussi appelés effets secondaires extrapyramidaux) et l'hyperprolactinémie (Kapur et al., 2000). Les troubles moteurs peuvent être classés en quatre grandes catégories. La première consiste en un syndrome, caractérisé par des tremblements au repos et des difficultés dans l'initiation des mouvements, semblable à la maladie de Parkinson. La deuxième comprend les dystonies aiguës, qui sont des spasmes musculaires souvent douloureux et atteignant généralement le visage et le cou. Vient ensuite l'akathisie, qui est le troisième type de mouvements anormaux initiés par les antipsychotiques typiques. Elle se définit par un besoin incontrôlable de bouger, généralement les membres inférieurs, qui est parfois confondu avec de l'anxiété ou bien de l'agitation psychotique. Cette confusion peut

amener le clinicien à augmenter inutilement la dose d'antipsychotique. Contrairement aux trois autres types de troubles moteurs qui sont des effets aigus du traitement, le quatrième type se développe lors d'un traitement chronique. C'est pourquoi on les nomme dyskinésies tardives. Étant très débilitantes et parfois irréversibles, elles sont le principal facteur limitant l'utilisation des antipsychotiques de première génération (Nestler et al., 2009, Kane and Correll, 2010). Ces premiers antipsychotiques ne sont pas vraiment spécifiques aux récepteurs de la dopamine (voir tableau 1). Ils provoquent ainsi plusieurs effets indésirables (sédation, hypotension, perturbation du système nerveux autonome, dysfonctions sexuelles et gain de poids) (tableau 2) causés par le blocage collatéral des récepteurs; histaminiques, α -adrénergiques, muscariniques et sérotoninergiques (Richelson, 1988).

Tableau 1 : Affinité relative de quelques antipsychotiques typiques pour différents récepteurs.

		Affinité relative (antagoniste)					
Famille	Composé	Dopamine Histamine Adrénergique Acétylcholine Sérotonine					
		D2	H1	$\alpha 1$	$\alpha 2$	Muscarinique	5HT ₂
Phénothiazines	Chlorpromazine	++	+++	++++	-	+	++++
	Fluphénazine	+++++	++	+++	-	-	-
	Perphénazine	++++	+++	+++	-	-	+++
	Prochlorphérazine	+++	++	++	-	-	++
	Thioridazine	++	++	+++	-	++	++
Butyrophénones	Halopéridol	++++	-	+++	-	-	+

Ref. (Richelson, 1988, Leysen et al., 1993)

Tableau II : Liste partielle des effets secondaires des antipsychotiques typiques les plus couramment utilisés

Drogue	Sévérité des effets indésirables			
	Sédation	Hypotension	Effets autonomiques ^a	Symptômes extrapyramidaux
Chlorpromazine	Haute	Haute	Haute	Moyenne
Fluphénazine	Basse	Basse	Basse	Haute
Perphénazine	Basse	Basse	Basse	Haute
Prochlorphérazine	Moyenne	Basse	Basse	Haute
Thioridazine	Haute	Haute	Haute	Basse
Halopéridol	Basse	Basse	Basse	Haute

^a : Les effets autonomiques incluent; vision floue, sécheresse de la bouche, réduction de la motilité gastrique et intestinale, rétention urinaire et constipation.

Ref. (Meyer and Quenzer, 2005, Nestler et al., 2009)

1.2.2 Les antipsychotiques atypiques

En 1958, des propriétés neuroleptiques furent rapportées de la part de composés tricycliques dérivés de l'imipramine (antidépresseur). L'un de ces composés était la clozapine. Son profil clinique d'effets secondaires était cependant bien différent des antipsychotiques jusqu'alors utilisés (voir tableau 2 et 4). En effet, contrairement à ces derniers, le traitement avec la clozapine ne causait pas de catalepsie ce qui causait beaucoup de scepticisme dans la communauté psychiatrique. La logique de l'époque était que, plus une drogue causait de symptômes extrapyramidaux, meilleur était son potentiel dans le traitement des psychoses. (Ramachandraiah et al., 2009). Les caractéristiques prometteuses de la clozapine furent toutefois assombries par une multitude d'effets secondaires, notamment une agranulocytose sévère pouvant être fatale qui se développait chez 1% des patients, et un gain de poids très important (Nestler et al., 2009)(voir tableau 4). Ces effets indésirables encouragèrent le

développement de nouvelles drogues à partir de la clozapine. La famille des antipsychotiques atypiques, ou de seconde génération, venait de naître car ces nouveaux composés synthétisés permettaient le traitement des symptômes psychotiques sans provoquer de troubles moteurs. Depuis, de nombreux composés se sont ajoutés à cette famille mais beaucoup d'effets secondaires subsistent toujours. Les antipsychotiques atypiques comptent toutefois pour la majorité des prescriptions aux États-Unis (Aparasu and Bhatara, 2006), principalement grâce à leur moins forte propension à causer les effets extrapyramidaux débilissants typiques des antipsychotiques de première génération. La clozapine est de plus très efficace dans le cas des patients réfractaires aux autres traitements (Kane et al., 1988).

1.2.2.1 Effets indésirables des antipsychotiques atypiques

Les antipsychotiques atypiques possèdent, comme ceux de première génération, une certaine affinité pour les récepteurs de la dopamine D_2 (Kapur and Remington, 2001). Les caractéristiques pharmacologiques qui les distinguent des antipsychotiques typiques sont, leur affinité supérieure pour les récepteurs de la sérotonine (5-HT) (Stockmeier et al., 1993), leurs effets moins soutenus sur le métabolisme de la dopamine (augmentation moindre des métabolites de la dopamine par rapport aux typiques) et possiblement une dissociation plus rapide du récepteur de la dopamine D_2 (Wilk et al., 1975, Kapur and Seeman, 2000). Les dernières observations diminuent grandement les risques d'effets indésirables secondaires au blocage des récepteurs D_2 . Il est effectivement établi qu'un ratio élevé de l'affinité 5HT/ D_2 est corrélé avec une faible propension à induire des symptômes extrapyramidaux (Meltzer et al., 1989). Le blocage des récepteurs 5HT_{2a} semble avoir un effet régulateur sur la libération de la dopamine ce qui pourrait expliquer en partie, certains effets bénéfiques des antipsychotiques atypiques sur les psychoses (Meltzer and Massey, 2011). Les atypiques ne sont cependant pas exempts d'effets secondaires sérieux limitant son efficacité globale. Outre l'agranulocytose (pouvant être associée au traitement par la clozapine) et le gain de poids mentionnés précédemment, les

patients peuvent subir de la sédation, de l'hypotension, des perturbations du système nerveux autonome et de l'hyperlipidémie. De plus, le développement de dyskinésie tardive est possible malgré le risque moins grand qu'avec les antipsychotiques typiques (Casey, 1999).

L'aripiprazole est un nouveau composé intéressant récemment approuvé par la FDA pour le traitement de la schizophrénie. Il semble agir en tant qu'agoniste partiel sur les récepteurs D₂ présynaptique, réduisant la libération de neurotransmetteur, et en tant qu'antagoniste sur les récepteurs D₂ postsynaptiques, en plus d'être antagoniste des récepteurs de la sérotonine 5HT_{2a} et agoniste partiel des récepteurs 5HT_{1a} (Kikuchi et al., 1995, Mamo et al., 2007). Ce profil inhabituel résulte en un traitement qui possède une faible propension à provoquer des troubles moteurs malgré la grande affinité de l'aripiprazole pour les récepteurs D2 (Shapiro et al., 2003).

Tableau III : Affinité relative de quelques antipsychotiques atypiques pour différents récepteurs

		Affinité relative (antagoniste)					
Famille	Composé	Dopamine	Histamine	Adrénargique	Acétylcholine	Sérotonine	
		D2	H1	α1	α2	Muscarinique	5HT ₂
Diazépine	Clozapine	++	++++	+++	+++	++++	++++
	Olanzapine	+++	++++	+++	-	++++	++++
Thiazépine	Quietapine	++	++++	++++	+	+++	+++
Indole	Ziprasidone	+++	+	++	-	-	+++
	Sertindole	+++	+	+++	-	+	++++
Autre	Rispéridone	+++	+	+++	+++	-	++++
	Aripiprazole	++++ ^a	-	-	-	-	+++

^a: Agoniste partiel et antagoniste selon le type de récepteur (pré ou postsynaptique)

Réf. (Leysen et al., 1993, Kapur and Remington, 2001, Davis and American College of Neuropsychopharmacology, 2002, Shapiro et al., 2003)

Tableau IV : Liste partielle des effets secondaires des antipsychotiques atypiques les plus couramment utilisés

Droque	Sévérité des effets indésirables					
	Sédation	Hypotension	Effets autonomiques ^a	Symptômes extrapyramidaux	Gain pondéral	Hyperlipidémie
Clozapine	Haute	Haute	Moyenne	Basse	Haute	Moyenne
Olanzapine	Moyenne	Moyenne	Basse	Basse	Haute	Moyenne
Quétiapine	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Basse	Moyenne	Moyenne
Ziprasidone	Basse	Basse	Moyenne	Basse	Basse	Bas
Risperidone	Basse	Basse	Moyenne	Basse	Moyenne	Bas

^a : Les effets autonomiques incluent; vision floue, sécheresse de la bouche, réduction de la motilité gastrique et intestinale, rétention urinaire et constipation.

Ref. (Kapur and Remington, 2001, Meyer and Quenzer, 2005, Rico-Villademoros and Calandre, 2007)

Deux études de grande envergure, soit l'étude CATIE (*Clinical Antipsychotic Trials in Intervention Effectiveness*) (Lieberman et al., 2005) et CUTLASS (*Cost Utility of the Latest Antipsychotic Drugs in Schizophrenia Study*) (Jones et al., 2006), ont conclu que l'efficacité thérapeutique globale des antipsychotiques atypiques est probablement la même que les typiques. Considérant le coût élevé des atypiques, d'un point de vue pharmacoéconomique, il ne semble pas y avoir d'avantage dans leur utilisation par rapport aux typiques. Ces derniers semblent donc avoir encore de belles années devant eux si des moyens de réduire leurs effets secondaires moteurs sont utilisés en concomitance. Pour l'instant, le traitement de la schizophrénie demeure une question de compromis avec les divers effets indésirables.

1.2.3 Autres traitements

1.2.3.1 Autres traitements pharmacologiques

La tendance actuelle dans le développement de nouveaux antipsychotiques est basée sur l'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie. Respectivement, les coactivateurs et agonistes des récepteurs ionotropiques et métabotropiques du glutamate sont des candidats intéressants mais leur efficacité reste à démontrer (Krystal et al., 2003, Nestler et al., 2009).

D'autres approches visent plutôt à réduire les symptômes cognitifs de la schizophrénie en modulant les récepteurs de l'acétylcholine. Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, les inhibiteurs de la cholinestérase provoquent non seulement une amélioration de la cognition, mais aussi une réduction importante des hallucinations (Cummings and Back, 1998). De fortes doses d'antagonistes muscariniques peuvent provoquer des symptômes semblables aux psychoses ainsi que des pertes de mémoire. Les agonistes muscariniques pourraient donc être un traitement possible pour les symptômes positifs et négatifs de la schizophrénie (Bymaster et al., 1999).

1.2.3.2 Approches non pharmacologiques

Quelques interventions non pharmacologiques ayant un certain potentiel font l'objet d'études présentement et sont de plus en plus utilisées. La psychothérapie par exemple, peut réduire considérablement les risques de rechute des psychoses. De plus, les évaluations de ses effets sur l'étendue des symptômes cognitifs ont apportées des résultats encourageants (Herz et al., 2000, Davis and American College of Neuropsychopharmacology, 2002). Elle aurait aussi des effets bénéfiques sur

l'adhérence au traitement par les patients (Kemp et al., 1998). Par ailleurs, l'électroconvulsivothérapie peut aussi s'avérer utile en réduisant les psychoses chez les patients réfractaires à la médication traditionnelle (Davis and American College of Neuropsychopharmacology, 2002). Une variante de cette méthode appelée la stimulation magnétique transcrânienne, est un champs de recherche populaire de nos jours. Ses effets positifs dans le traitement de la dépression sont démontrés depuis quelque temps (George et al., 1999). Elle a donc un potentiel intéressant pour le traitement de patients schizophrènes présentant des dérèglements affectifs.

1.3 Les ganglions de la base

Les ganglions de la base sont un groupe de noyaux sous-corticaux formant un réseau complexe jouant un rôle primordial, avec le cortex et le thalamus, dans le traitement des influx nerveux gouvernant l'initiation et le contrôle des mouvements volontaires. Brièvement, les ganglions de la base intègrent les influx du cortex pour finalement les lui retourner via le thalamus et ainsi permettre la transmission d'un potentiel d'action vers la moelle épinière. Ces structures sont aussi impliqués dans l'apprentissage moteur (Graybiel, 1995). Ils comprennent; le striatum, le *globus pallidus*, la substance noire (divisée en deux parties, réticulée et compacte) et le noyau sous-thalamique (fig. 2)(Parent and Hazrati, 1995).

1.3.1 Structure

Le striatum est une structure très importante pour la régulation des fonctions motrices par les ganglions de la base. Il est composé à 95% de neurones de projections GABAergique que l'on nomme les neurones de projections épineux et le 5% restant consiste en des interneurones GABAergiques et cholinergiques (pour une revue, voir (Kreitzer, 2009)). Il reçoit ses afférences de trois structures principales; premièrement, le cortex cérébral et le thalamus desquels proviennent de nombreuses terminaisons excitatrices glutamatergiques, et deuxièmement, de la substance noire compacte qui lui procure un tonus modulateur dopaminergique. Les neurones de projections épineux se divisent en deux types qui diffèrent, dans l'expression des récepteurs de la dopamine et des neuropeptides, ainsi que dans les structures visées par leurs projections inhibitrices. Ils donnent naissance à deux voies distinctes, la voie directe et la voie indirecte. Les neurones de projections de la voie directe expriment les récepteurs D1 de la dopamine, les neuropeptides dynorphine (DYN) et substance P (SP) et projettent principalement dans la substance noire réticulée (SNr) tandis que les neurones de projections de la voie indirecte expriment les récepteurs de la

dopamine D2, le neuropeptide enképhaline (ENK) et projettent dans le segment externe du globus pallidus (GPe) (Gerfen et al., 1990). Ce patron d'expression des récepteurs de la dopamine diffèrent selon la voie de projection de ces neurones fait que la dopamine exerce des actions opposées sur la voie directe et indirecte en activant les neurones qui projettent dans la SNr et en inhibant ceux qui projettent dans le GPe. Au niveau du contrôle des mouvements, on peut affirmer que la stimulation de la voie directe facilite les mouvements par la désinhibition du thalamus et la stimulation de la voie indirecte produit l'effet contraire soit, l'inhibition du thalamus ((Steiner and Tseng, 2010) chapitre.1).

Le GPe quand à lui, reçoit ses afférences principales des neurones de projections du striatum en plus de recevoir de puissants influx excitateurs provenant du noyau sous thalamique ((Steiner and Tseng, 2010) chapitre 15). Le GPe est composé majoritairement de neurones GABAergiques dont à peu près 30% des projections retournent au striatum dans une boucle de rétroaction (Kita, 2007). Ces projections ciblent dans une proportion égale, les interneurones GABAergiques du striatum ou les neurones de projection épineux. Les 70% restant forment des synapses inhibitrices principalement dans le noyau sous-thalamique (STN), mais aussi dans le segment interne du globus pallidus (GPi) et dans la SNr.

Malgré sa petite taille, le noyau sous thalamique occupe une place stratégique dans la régulation des ganglions de la base. À l'opposé de 99% des neurones qui compose ces derniers, les neurones du STN expriment le neurotransmetteur glutamate plutôt que le GABA. Ils reçoivent des afférences glutamatergiques excitatrices du cortex et du thalamus, des afférences inhibitrices GABAergiques du GPe et certaines collatérales dopaminergiques venant de la substance noire. Les neurones de projections du STN procurent de puissant influx excitateurs à la SNr, et au GPe, pour former une autre boucle de rétroaction. Le patron du taux de décharge des neurones du STN est complexe et finement régulé par les influx directs provenant du cortex et

ceux provenant par la voie de sortie indirecte du striatum (pour une revue voir, (Steiner and Tseng, 2010) chapitre 15).

Finalement, la substance noire réticulée constitue, avec le segment interne du globus pallidus (GPi), le point de rencontre entre la voie directe et indirecte qui origine du striatum. Ils reçoivent les projections inhibitrices GABAergiques de la voie directe provenant du striatum et des afférences glutamatergiques du noyau sous-thalamique. Les neurones de la SNr et du GPi utilisent le GABA comme neurotransmetteur. Leur structure cible principale est le thalamus sur lequel ils exercent une inhibition tonique. Ensuite le thalamus excite directement le cortex moteur par ses projections glutamatergiques pour terminer la boucle des ganglions de la base (voir (Steiner and Tseng, 2010) chap.13 et 16).

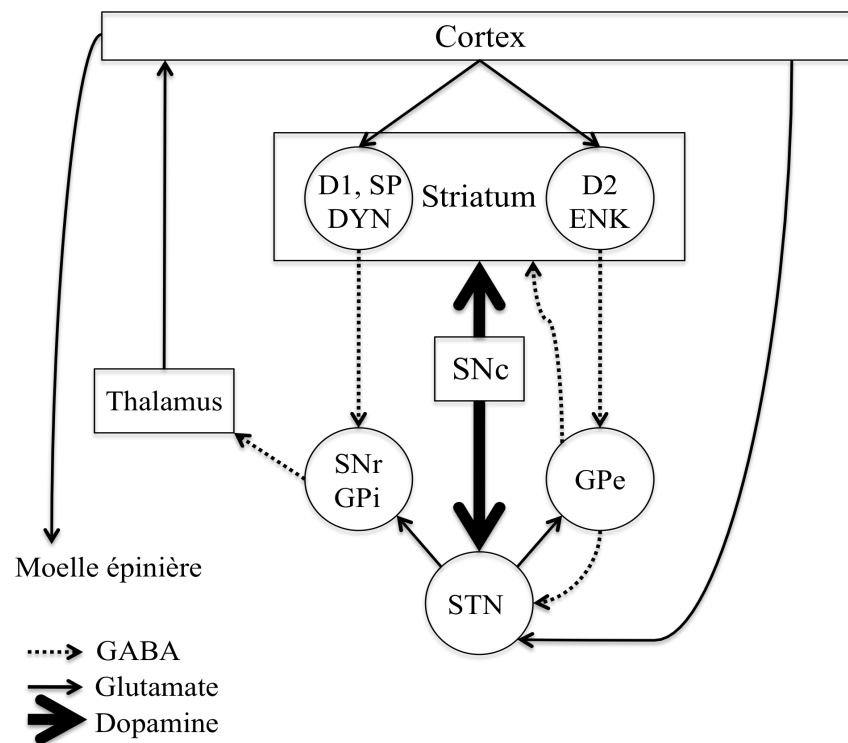


Figure 2 : Schéma simplifié des principales interactions fonctionnelles entre les noyaux qui composent les ganglions de la base. SP; substance P, DYN; dynorphine, ENK; enképhaline, SNc et SNr; substance noire compacte et substance noire réticulée, GPc et GPi; segment externe et interne du globus pallidus; STN; noyau sous-thalamique.

1.4 Les troubles du mouvement

Le striatum est le noyau central du réseau que l'on désigne comme étant les ganglions de la base. Les dysfonctionnements de ce réseau mènent habituellement à divers désordres du mouvement. Par exemple, le traitement avec les antipsychotiques typiques est associé avec une variété de troubles moteurs qui résultent du blocage des récepteurs de la dopamine D2 du striatum (Kapur et al., 2000), et la perte des neurones dopaminergiques de cette structure est responsable des tremblements involontaires de la maladie de Parkinson (Davie, 2008).

1.4.1 Les dérèglements des ganglions de la base

1.4.1.1 Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est caractérisée par la perte des neurones dopaminergiques de la substance noire compacte (SNc) qui projettent dans le striatum causant ainsi un déséquilibre entre les voies de sorties directe et indirecte du striatum. Avec la perte graduelle des neurones dopaminergiques, se produisent certains changements dans les niveaux d'expression des neuropeptides exprimés par les différentes structures des ganglions de la base afin de rétablir l'équilibre entre ces deux voies (Samadi et al., 2006a). Ces mécanismes d'adaptations contribuent certainement à retarder les symptômes moteurs de la maladie qui apparaissent quand la perte des corps cellulaires de la SNc atteint 40-50% et la perte des terminaisons dopaminergiques du striatum atteint 60-80% (Lang and Obeso, 2004). Les symptômes peuvent même être contrôlés par la modulation ciblée de noyaux spécifiques des ganglions de la base par stimulation cérébrale profonde (principalement le noyau sous-thalamique) (DeLong and Wichmann, 2007).

1.4.1.2 Les dyskinésies

Les dyskinésies se caractérisent par des mouvements anormaux involontaires du visage, du cou ou bien des membres supérieurs. Il existe deux types de dyskinésies toutes deux causées par un traitement pharmacologique. Les dyskinésies induites par la Lévodopa (traitement de la maladie de Parkinson) et les dyskinésies tardives. Elles peuvent parfois être irréversible donc, représentent une considération majeure pouvant sérieusement limiter les options thérapeutiques.

1.4.1.2.1 Les dyskinésies tardives

Les principaux facteurs de risques de la dyskinésie tardive sont; l'âge plus élevé, l'exposition prolongée aux antipsychotiques, la dose d'antipsychotique utilisée et la présence d'effets secondaires extrapyramidaux (Casey, 1999). Son incidence cumulative moyenne est d'à peu près 5% par année de traitement et tend à augmenter chez les patients plus âgés (Kakigi et al., 1995, Tarsy and Baldessarini, 2006).

Puisqu'il est difficile d'évaluer, chez l'humain, les changements physiologiques qui surviennent dans le développement de la dyskinésie tardive, les données et hypothèses sont issues d'études réalisées chez les rongeurs (Rats et souris). Le modèle le plus utilisé consiste en un traitement chronique avec un antipsychotique jusqu'à l'apparition de mouvements de mâchouillements appelés VCM (*vacuuous chewing movements*), qui sont semblable aux mouvements orofaciaux observés chez les humains dyskinétiques (Turrone et al., 2002).

Les mécanismes pathologiques de la dyskinésie tardive ne sont pas encore très bien compris. L'hypothèse principale se concentre sur le concept d'hypersensibilité des récepteurs de la dopamine. Brièvement, elle propose que dans le système nigrostrié,

se développe une hypersensibilité des récepteurs D2 afin de compenser leur blocage chronique par des antagonistes (antipsychotiques) dans le striatum (Casey, 1991). Elle est appuyée par quelques observations chez les rongeurs comme, la réponse comportementale augmentée pour des agonistes dopaminergiques après un traitement avec des antagonistes dopaminergiques et la corrélation entre l'augmentation de l'expression des récepteurs D2 et les changements comportementaux (Casey, 2000). Selon cette hypothèse, il n'est pas étonnant que la pathologie soit secondaire au traitement par des antipsychotiques de première génération principalement (antagoniste D2). Il existe en effet, une corrélation importante entre le potentiel d'un antipsychotique pour bloquer les récepteurs D2 et les risques de développer la dyskinésie tardive (Nestler et al., 2009). Des études sur des modèles animaux ont aussi révélé une activation graduelle (augmentation de l'expression du neuropeptide dynorphine) des projections de la voie directe striatonigrale suivant un traitement chronique avec des neuroleptiques ce qui suppose une certaine connexion fonctionnelle entre les voies striatonigrale et striatopallidale (directe et indirecte) (Ossowska, 2002). Ce phénomène est accentué chez les rongeurs qui développent des dyskinésies par rapport à ceux qui n'en développent pas (Ossowska, 2002). Des anomalies du système GABAergique dans les ganglions de la base (augmentation du métabolisme du GABA ainsi que de ses récepteurs, diminution de la décarboxylase de l'acide glutamique) ont aussi été relevées chez les rongeurs, les primates et les humains après un traitement chronique avec des antipsychotiques (Egan et al., 1997). Ces anomalies ont été corrélées avec l'augmentation de l'incidence de dyskinésies tardives. Toutes ces perturbations du fonctionnement normal des ganglions de la base provoquent probablement un déséquilibre du système que ses mécanismes d'adaptations ne peuvent contrebalancer, causant ainsi les dyskinésies.

Les changements fonctionnels ne semblent pas être les seuls facteurs impliqués dans le développement de la dyskinésie tardive. Une perte neuronale dans le striatum et la substance noire réticulée en combinaison avec une augmentation de l'apoptose dans ces structures a été observée chez des modèles animaux traités avec l'halopéridol

(Mitchell et al., 2002, Andreassen et al., 2003). La perte striatale affecte principalement les interneurons GABAergiques et cholinergiques du striatum qui, malgré leur petit nombre par rapport aux neurones de projections, y jouent un rôle modulateur important (Ossowska, 2002). La cytotoxicité de l'halopéridol est vraisemblablement secondaire, à une augmentation du stress oxydatif causé par la production de métabolites toxiques de la dopamine, et aussi à une excitotoxicité médiée par l'augmentation des niveaux extracellulaires de glutamate (Mitchell et al., 2002). Il est cependant à noter que les doses d'antipsychotiques administrés dans les études précédentes sont très élevées (jusqu'à 12 mg/kg i.p. et 38 mg/kg par 4 semaines i.m.)

Des cas de dyskinésie ont aussi été rapportés chez des patients traités avec des antipsychotiques atypiques même si ces derniers sont associés à un risque relativement bas pour le développement de la pathologie, qui est expliqué par une affinité moindre pour les récepteurs D2 (Tarsy and Baldessarini, 2006). Cette caractéristique permet souvent au clinicien d'utiliser les atypiques comme traitement de remplacement lorsque un patient traité avec les antipsychotiques typiques développe des dyskinésies (Egan et al., 1997). Cependant, cela n'est pas toujours suffisant pour éliminer les dyskinésies.

Il existe peu de traitements pharmacologiques efficaces pour les dyskinésies. La stratégie utilisée réside donc souvent dans la prévention, principalement par l'administration de la plus petite dose possible afin de réduire l'exposition aux antipsychotiques ou par l'utilisation de composés moins sujet à causer des dyskinésies. Lorsque les dyskinésies sont déjà présentes, des composés comme la tétrabénazine (inhibiteur du transporteur vésiculaire de la dopamine VMAT2) permettent de réduire considérablement les mouvements anormaux mais en ayant quelques effets secondaires (dépression, sédation et parkinsonisme)(Ondo et al., 1999). Des agonistes GABAergiques peuvent parfois procurer un soulagement des

dyskinésies (Egan et al., 1997). L'utilisation de certaines substances en prophylaxie avec le traitement aux antipsychotiques peut aussi donner des résultats positifs. La vitamine E est connue pour réduire l'incidence de la maladie chez les modèles animaux, possiblement par ses capacités antioxydantes (Egan et al., 1997). L'acide docosahexaénoïque (DHA) possède les mêmes effets positifs sur l'incidence des VCM chez la souris (Ethier et al., 2004b). Le DHA possède également des propriétés antioxydantes, mais ses effets protecteurs pourraient provenir d'une activité transcriptionnelle dû à son interaction avec plusieurs récepteurs nucléaires (de Urquiza et al., 2000, Vinayavekhin and Saghatelian, 2011). Une approche impliquant la stimulation cérébrale profonde du noyau sous-thalamique est encore au stade expérimental mais les résultats sont jusqu'à maintenant très encourageant chez les rats (Creed et al., 2011). Ces derniers résultats démontrent qu'il est possible de diminuer grandement les dyskinésies en modulant l'activité d'une seule structure ce qui est quand même étonnant vue la complexité des interactions entre les ganglions de la base.

1.5 LES NEUROPEPTIDES

Les neuropeptides sont de petites protéines servant de neuromodulateurs dans les structures des ganglions de la base. Leur synthèse débute par la production de gros polypeptides précurseurs qui sont ensuite soumis à plusieurs modifications post-traductionnelles. Ainsi, le même gène est en mesure de donner naissance à une grande variété de neuropeptides selon l'environnement de la cellule ou il est transcrit (Nestler et al., 2009). Contrairement aux neurotransmetteurs classiques (ex. Glutamate, GABA) qui sont synthétisés dans les terminaisons axonales, les neuropeptides sont produits dans le corps cellulaire pour être ensuite transportés vers les terminaisons axonales dans de grosses vésicules à cœur dense (LDCV)(Li and Dahlstrom, 2007). Il n'existe pas de mécanisme de recapture des neuropeptides après leur libération dans la synapse. Ils sont donc retirés de cette dernière via diffusion ou dégradation par des peptidases extracellulaires. Ce processus relativement lent contribue à leur longue durée d'action par rapport aux neurotransmetteurs classiques (Konkoy and Davis, 1996, Noback, 2005). Les neuropeptides se colocalisent avec les neurotransmetteurs classiques et ils peuvent vraisemblablement être relâchés dans les mêmes terminaisons axonales que ceux-ci afin de moduler leurs actions (Albanese and Altavista, 1984, Kelley and Cador, 1988, Steiner and Gerfen, 1998).

Dans les ganglions de la base, la synthèse *de novo* des neuropeptides est modulée par la plupart des perturbations du système dopaminergique, notamment les antipsychotiques (Romano et al., 1987, Beaudry et al., 2000, Gruber et al., 2002, Ethier et al., 2004a), ainsi que la perte des projections dopaminergiques du striatum dans la maladie de Parkinson (St-Hilaire et al., 2003, Samadi et al., 2006a). De plus, certaines études démontrent que les antipsychotiques pourraient aussi inhiber les peptidases responsables de la dégradation des neuropeptides après leur libération dans la synapse (Konkoy et al., 1996, Waters et al., 1996). Ces observations suggèrent un

possible rôle des neuropeptides dans le maintien de l'homéostasie du système dopaminergique lors d'un traitement pharmacologique.

1.5.1 Les récepteurs opioïdes

À ce jour, quatre types de récepteurs opioïdes ont été identifiés. Ils ont été classés selon leurs spécificités pour différents ligands opioïdes : μ ou mu pour morphine, δ ou delta pour *deferens* car ils ont été initialement découverts dans les canaux déférents de souris, κ ou kappa pour kétocyclazocine et NOP-R pour nociceptine et orphanine. De nombreuses études pharmacologiques, basées sur les différences de signalisation ou de spécificité pour certains ligands, ont permis de croire que les quatre types de récepteurs opioïdes peuvent se subdiviser en plusieurs autres sous-types, $\mu 1$, $\mu 2$, $\mu 3$, $\delta 1$, $\delta 2$, $\kappa 1a$, $\kappa 1b$, $\kappa 2$, $\kappa 3$ (Waldhoer et al., 2004, Corbett et al., 2006). Cependant, la dernière décennie a donné lieu à plusieurs observations démontrant l'oligodimérisation de nombreux types de GPCR, incluant les récepteurs opioïdes. Il a donc été suggéré que les différences pharmacologiques observées entre certains sous types de récepteurs opioïdes proviendraient de l'interaction entre deux récepteurs. Par exemple, le récepteur $\kappa 2$ serait en fait le résultat de l'hétérodimérisation des récepteurs κ et δ (Smith and Lee, 2003, Corbett et al., 2006).

Les quatre types de récepteurs opioïdes font partie de la grande famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (GPCR). Ils possèdent une extrémité N-terminale extracellulaire et C-terminale intracellulaire. Cette extrémité C-terminale est liée à une sous-unité alpha G_i/G_o (sensible à la toxine pertussique). Lors de l'activation du récepteur opioïde, la sous-unité α activée, ainsi que le complexe $\beta\gamma$ de la protéine G, sont responsables de la modification de la perméabilité de canaux ioniques (Ca^{++} et K^+) et du déclenchement de certaines cascades de signalisation intracellulaire. L'effet immédiat de l'activation des

récepteurs opioïdes est donc une hyperpolarisation du neurone réduisant ainsi, la transmission de potentiel d'action post-synaptique, ou bien la relâche de neurotransmetteurs dans la synapse pré-synaptique. Plus précisément, ces effets sont entre autres; l'inhibition de l'adénylate cyclase, l'activation de la protéine kinase C, l'activation des kinases activées par les mitogènes (MAPK), l'inhibition de la conductance du Ca^{++} et l'activation de la conductance du K^{+} (Williams et al., 2001).

1.5.2 Les peptides opioïdes

Les peptides opioïdes sont principalement dérivés de quatre gènes précurseurs; la pro-opiomélanocortin (POMC), la proenképhaline, la prodynorphine et la pronociceptine/orphanine FQ. Les peptides qui en sont issus sont par la suite clivés en plusieurs fragments par différentes peptidases dépendamment du contexte cellulaire (Pritchard and White, 2007, Nestler et al., 2009). La POMC est le peptide précurseur de la β -endorphine ainsi que d'autres peptides non opioïdes tels que l'adrénocorticotrophine (ACTH) et des α et β -mélantropines (α et β -MSH). La proenképhaline contient pour sa part quatre copies de Met-enképhaline, deux copies de Met-enképhaline étendu du côté C-terminal et une copie de Leu-enképhaline. La dynorphine A et B ainsi que l' α et β -néoendorphine sont issus du peptide codé par le gène de la prodynorphine. Finalement, la pronociceptine/orphanine FQ donnera naissance à la nociceptine/orphanine FQ (N/OFQ). Ces peptides opioïdes partagent tous la même séquence d'acides aminés en N-terminal soit ; tyrosine-glycine-glycine-phénylalanine suivi d'une méthionine ou leucine (Nestler et al., 2009). Deux autres neuropeptides qui possèdent une grande spécificité pour les récepteurs μ opioïdes ont été découverts plus récemment, les endomorphines 1 et 2. Ce sont des tétrapeptides dont on ne connaît pas encore le précurseur et qui ne possèdent pas d'analogies structurales avec les autres neuropeptides (Waldhoer et al., 2004).

1.5.2.1 La β -endorphine

La β -endorphine est un peptide opioïde endogène de 31 acides aminés qui agit préférentiellement sur les récepteurs opioïdes μ et δ tout en ayant une faible affinité pour les récepteurs κ (Corbett et al., 2006). Dans le système nerveux central, elle est exprimée principalement dans l'hypophyse, la glande pinéale et l'hypothalamus. Cependant, les extensions des neurones contenant de la β -endorphine peuvent projeter dans différentes régions du cerveau, incluant la VTA et le noyau accumbens (Roth-Deri et al., 2008). Elles sont impliquées entre autre, dans le phénomène de récompense donc possiblement, dans l'addiction, et ont un rôle analgésique. En périphérie du système nerveux, elles sont impliquées dans le stress, l'obésité, le diabète et la réponse immunitaire (Berczi et al., 1996, Charmandari et al., 2005).

1.5.2.2 Les enképhalines

La Leu-enképhaline (Leu-Enk) et Met-enképhaline (Met-Enk) sont des peptides de 5 acides aminés dont les séquences sont terminées par une leucine (Leu-enk) ou par une méthionine (Met-enk). Les deux peptides étendus en C-terminal sont en fait, des versions allongées de la Met-enk suivit de la séquence d'acides aminés Arginine-Glycine-Leucine, ou bien, Arginine-Phénylalamine (Nestler et al., 2009). Ils exercent leurs effets principalement par l'intermédiaire des récepteurs opioïdes δ et, dans une moindre mesure, des récepteurs μ (Janecka et al., 2004). Leur affinité pour les récepteurs κ n'est que négligeable. Les enképhalines sont les peptides opioïdes les plus abondants du cerveau tout en ayant une distribution très étendue. Leur expression est la plus dense dans les terminaisons axonales du *globus pallidus*. Les autres principales régions contenant des terminaisons immunoréactives pour l'enképhaline comprennent ; le noyau accumbens, les noyaux de la strie terminale, l'amygdale, de nombreux noyaux hypothalamiques et plusieurs structures impliquées dans le mécanisme de l'analgésie comme la substance grise périaqueducule, le noyau

raphé et la substance gélatineuse de la corne dorsale de la moelle épinière (Elde and Hokfelt, 1979, Fukushima et al., 2011). Les enképhalines sont aussi exprimées en périphérie, principalement dans la médullosurrénale, le tractus gastro-intestinal et certaines cellules immunitaires dont les lymphocytes-T et les monocytes (Salzet and Tasiemski, 2001). Elles ont des effets modulateurs dans le contrôle de la douleur, le contrôle moteur, la réponse immunitaire ainsi que le fonctionnement du système limbique (Akil et al., 1984).

1.5.2.3 Les peptides dérivés de la prodynorphine

Le clivage du peptide précurseur issu du gène de la prodynorphine permet la formation de plusieurs opioïdes actifs de différentes tailles (dynorphine A(1-17 et 1-8), dynorphine B, α et β néoendorphine (Day et al., 1998). Tous sont des agonistes des récepteurs opioïdes κ principalement, qui possèdent aussi une faible affinité pour les deux autres types de récepteurs, soit δ et μ (Janecka et al., 2004). Comme les enképhalines, ces peptides ont une expression très étendue dans le système nerveux central. On les retrouve entre autre; dans le cortex, l'hippocampe, le noyau accumbens, le striatum, le globus pallidus et la moelle épinière (Khachaturian et al., 1982) ou ils modulent la douleur ainsi que le phénomène d'addiction et certains désordres affectifs comme la dépression causée par le stress (Shirayama et al., 2004, Shippenberg, 2009).

1.5.3 Les peptides et récepteurs opioïdes dans les voies directe et indirecte des ganglions de la base.

Les ganglions de la base sont reconnus pour leurs contenus important en peptides opioïdes endogènes (Albanese and Altavista, 1984, Steiner and Gerfen, 1998). Les plus important sont; l'enképhaline, localisée surtout dans les neurones épineux moyens du striatum qui projettent dans le *globus pallidus* (neurones striatopallidaux),

et la dynorphine, qui se retrouve dans les neurones épineux moyens qui projettent dans la substance noire réticulée (neurones striatonigraux) (Parent and Hazrati, 1995, Steiner and Gerfen, 1998). Dans les neurones épineux moyens, ces deux neuropeptides se colocalisent avec l'acide γ aminobutyrique (GABA) (Nestler et al., 2009).

L'expression de la dynorphine dans le striatum est modulée par le tonus dopaminergique en stimulant les récepteurs D1. Par exemple, la déplétion de la dopamine dans cette structure par une lésion cytotoxique provoque une diminution de l'expression de la dynorphine dans les neurones striatonigraux. Cette diminution est complètement réversible par des agonistes sélectifs D1 (Engber et al., 1992). En augmentant la libération de dopamine dans le striatum, les psychostimulants provoquent également une augmentation des niveaux de dynorphine (Steiner and Gerfen, 1998). Cette modulation est possiblement une réponse adaptative produite afin de compenser une suractivation des récepteurs D1 (Samadi et al., 2006a). La dynorphine peut inhiber la libération de dopamine dans le striatum par deux mécanismes. Premièrement, en étant relâchée localement par les collatérales des axones provenant des neurones striatonigraux du striatum, ce qui stimule les récepteurs κ présynaptiques des terminaisons dopaminergiques, diminuant ainsi la libération de dopamine (You et al., 1999). Et deuxièmement, en étant libérée dans la substance noire compacte par les connections réciproques des neurones striatonigraux qui projettent dans la substance noire réticulée, ce qui inhibe directement les neurones dopaminergiques qui projettent dans le striatum par la stimulation de leurs récepteurs κ (You et al., 1999).

L'expression de l'enképhaline dans le striatum est plutôt modulée par l'activité des neurones striatopallidaux. L'augmentation de l'activité de ces neurones par le blocage de récepteurs de la dopamine D2 ou bien d'une lésion du système dopaminergiques (qui diminue la libération de dopamine dans le striatum) est accompagnée d'une

expression accrue d'enképhaline (Ethier et al., 2004a, St-Hilaire et al., 2006). Des études supposent que le peptide peut ensuite être relâché par les collatérales des axones à l'intérieur du striatum et ensuite inhiber les neurones striatopallidaux en stimulant leurs récepteurs opioïdes μ et δ postsynaptiques (Steiner and Gerfen, 1999). Il existe aussi des évidences d'une inhibition de la relâche de GABA par l'enképhaline dans le globus pallidus (Maneuf et al., 1994, Schroeder and Schneider, 2002) par la stimulation des récepteurs μ et δ présynaptiques situés sur les terminaisons axonales des neurones striatopallidaux (Stanford and Cooper, 1999). Ces actions de l'enképhaline permettent alors de limiter l'augmentation aberrante de l'activité de la voie indirecte des ganglions de la base par rapport à la voie directe.

1.5.4 Autres peptides modulateurs des voies directe et indirecte des ganglions de la base.

D'autres peptides qui ne font pas parti de la famille des opioïdes sont présents dans les ganglions de la base et leur expression est aussi modulée par l'activité des voies directe ou indirecte. Les principaux sont la neurotensine et la substance P.

1.5.4.1 La neurotensine et ses récepteurs

La neurotensine est un tridécapeptide dérivé d'un peptide précurseur que l'on nomme proneurotensine et qui contient aussi une copie de la neuromédine N. Jusqu'à maintenant trois récepteurs différents pour la neurotensine ont été clonés. NTS1 et NTS2 appartiennent à la catégorie des récepteurs couplés aux protéines G_q qui sont couplés fonctionnellement à la phospholipase C, et dont la cascade de signalisation mène à une augmentation des niveaux de calcium intracellulaire qui induit des effets excitateurs (Nestler et al., 2009). Le récepteur NTS3 est un récepteur à simple domaine transmembranaire dont la signalisation reste à clarifier. La neurotensine est exprimée à la fois dans les neurones striatonigraux et striatopallidaux et n'est donc

pas confinée à une seule des voies de sorties du striatum. Son expression est augmentée dans la voie directe par l'activation des récepteurs de la dopamine D1 et dans la voie indirecte, par le blocage des récepteurs D2, donc la désinhibition des neurones de projections du striatum (Castel et al., 1994). La libération de neurotensine dans la substance noire provoque entre autre, l'excitation des neurones dopaminergiques (Pinnock, 1985).

Suite à une augmentation de son expression dans les neurones striatopallidaux, elle peut être relâchée dans les terminaisons axonales du globus pallidus et augmenter le taux de décharge des neurones qui projettent dans le noyau sous-thalamique (Xue et al., 2007). La neurotensine peut donc possiblement, comme l'enképhaline, compenser la suractivation des neurones striatopallidaux secondaire au blocage des récepteurs D2.

1.5.4.2 Substance P

La substance P est un neuropeptide de 11 acides aminés faisant partie de la famille des tachykinines. Son peptide précurseur est codé par le gène de la préprotachykinine-A (Nestler et al., 2009). Dans les ganglions de la base, elle est exprimée dans les neurones striatonigraux de la voie directe et son expression est modulée par la stimulation des récepteurs de la dopamine D1, tout comme la dynorphine. Ses récepteurs (NK₁, NK₂, NK₃) sont couplés à des protéines G_q et, sa stimulation est liée à une augmentation des niveaux de calcium intracellulaire. Sa libération dans la substance noire favorise la libération de dopamine dans le striatum par les neurones dopaminergiques (Otsuka and Yoshioka, 1993). En étant libérée dans le striatum par les collatérales des axones des neurones striatonigraux, la substance P exercerait une modulation de l'activité des interneurones cholinergiques (Lee et al., 1997, Bell et al., 1998) et faciliterait l'activité glutamatergique sur les neurones de projections du striatum, possiblement par un mécanisme présynaptique

(Blomeley et al., 2009). Cependant il n'y a pas d'évidence pouvant démontrer la contribution de la substance P dans la physiopathologie des troubles du mouvement.

1.6 LES FACTEURS DE TRANSCRIPTIONS

Différents facteurs de transcriptions sont modulés à la hausse dans le striatum des rongeurs par le traitement avec les antipsychotiques typiques. L'halopéridol par exemple, module des gènes d'induction précoce tel que cFos, FosB, Δ FosB, zif268, et les récepteurs nucléaires orphelins Nur77 et Nor-1 (Nguyen et al., 1992, Maheux et al., 2005). Cette réponse fait partie des cascades de signalisation activée par le traitement afin de produire des changements physiologiques durables en modulant la transcription de divers gènes. Les récepteurs nucléaires Nur77 et Nor-1 sont d'un intérêt particulier car ils sont fortement modulés par les perturbations du système dopaminergique et sont également impliqués dans l'expression des effets secondaires moteurs aigus et chroniques (catalepsie, dyskinésie tardive) des médicaments qui affectent le système dopaminergique (Ethier et al., 2004a, Ethier et al., 2004b). De plus, la modulation des Nurs par les antipsychotiques ne s'atténue pas lors d'un traitement chronique contrairement à cFos (Langlois et al., 2001).

1.6.1 La famille des Nurs

Les Nurs (Nur77, Nurr1 et Nor-1) font partie de la famille des récepteurs nucléaires orphelins. Dans le système nerveux central, ils sont en relation très étroite avec le système dopaminergique. Par exemple, Nurr1 (NR4A2) est exprimé dans les neurones dopaminergiques de la substance noire et de l'aire tegmentaire ventrale, est un activateur transcriptionnel de la tyrosine hydroxylase (Sakurada et al., 1999) et est nécessaire à la maturation des neurones dopaminergiques (Zetterstrom et al., 1997). Nur77 (NR4A1 ou NGFI-B) et Nor-1 (NR4A3) sont plutôt exprimés dans les structures cibles des neurones dopaminergiques comme le striatum, le noyaux accumbens, les cortex préfrontal et cingulaire et sont fortement modulés par les

antipsychotiques typiques, principalement dans la portion latérale du striatum (Beaudry et al., 2000, Maheux et al., 2005). Les antipsychotiques atypiques (qui produisent peu d'effets secondaires moteurs) n'augmentent pas les niveaux de Nur77 dans le striatum latéral (Beaudry et al., 2000, Maheux et al., 2005). Cette observation suggère, soit que Nur77 est impliqué dans le développement des effets secondaires moteurs, ou bien que Nur77 est induit afin de contrebalancer une perturbation (blocage des récepteurs D2 par les antipsychotiques typiques) pouvant causer ces effets secondaires.

Ils exercent leurs effets en tant que facteurs de transcriptions activateurs ou répresseurs de l'expression des gènes de façon constitutive (Paulsen et al., 1995). Cependant, leur activité transcriptionnelle peut quand même être modifiée par des ligands (Zhan et al., 2008). Les trois membres de cette famille présentent une très forte homologie de >90% dans leur domaine de liaisons à l'ADN et de 60% pour leur domaine de liaison aux ligands mais différent au niveau de la région N-terminale (Maxwell and Muscat, 2006). Ils peuvent se lier à l'ADN sous la forme, de monomère à l'élément de réponse NBRE (NGFI-B response element), d'homodimère sur la séquence consensus NuRE (Nur-responsive element) et d'hétérodimère avec RXR (retinoïde X receptor) sur un motif DR-5 (Perlmann and Jansson, 1995) (voir fig. 3). Contrairement aux autres membres de cette famille, Nor-1 ne peut pas former d'hétérodimères sur ces éléments de réponses (Zetterstrom et al., 1996).

Monomères

NBRE **AAAGGTCA**

Homodimères

NuRE **←TGATATTTxxxxxxAAATGCCA→**

Hétérodimères avec RXR

DR-5 **GGTTC→ACCGAAAGGTCA→**

Figure 3 : Les éléments de réponse pour la famille des Nurs.

1.6.1.1 Nur77

Nur77 et Nurr1 sont les membres de cette famille dont la structure protéique et leur liaison à l'ADN ont été les mieux caractérisées. Nur77 est une protéine d'environ 75 kilodalton composé de 597 acides aminés (Cheng et al., 1997, Meinke and Sigler, 1999). Le domaine de liaison à l'ADN de Nur77 consiste en une séquence de 66 acides aminés contenant deux modules de quatre-cystéines/zinc (doigts de zinc) permettant la dimérisation spécifique de la protéine avec l'ADN. De plus, une extension C-terminale qui interagit avec la séquence en 5'-AAA de l'élément de réponse stabilise le complexe suffisamment pour permettre à Nur77 de se lier à l'ADN sous la forme de monomère (Meinke and Sigler, 1999). Il contient un domaine de liaison pour les ligands où se produit la dimérisation avec d'autres récepteurs nucléaires et deux domaines de transactivation (AF-1 en N-terminale et AF-2 dans la portion C-terminale) responsable des interactions avec les cofacteurs et corépresseurs qui permettent de moduler son activité transcriptionnelle (Aranda and Pascual, 2001).

Nur77 peut interagir avec d'autres protéines qui permettent de modifier son effet sur la transcription. Par exemple, son interaction avec le récepteur des glucocorticoïdes inhibe l'activité transcriptionnelle conférée par sa fixation sous la forme d'homodimère sur le promoteur de la POMC (Drouin et al., 1998). L'hétérodimérisation de Nur77 avec RXR permet aussi de moduler ses effets transcriptionnels selon la présence et le type de ligand lié à RXR (Perlmann and Jansson, 1995, Aarnisalo et al., 2002). L'augmentation de la colocalisation de Nur77 et RXR γ dans le striatum par un traitement aigu avec l'halopéridol suggère une interaction accrue de ces facteurs de transcription après un traitement avec des antipsychotiques (Ethier et al., 2004a). L'hétérodimère Nur77/RXR possède la particularité d'être activateur de la transcription en présence d'agoniste rétiniques sans que RXR soit lié à l'ADN (figure 4) (Forman et al., 1995). Les éléments de réponse pour le monomère (NBRE) peuvent donc aussi être sensibles aux ligands

rétiñoïques. La capacité de Nur77 à lier l'ADN, donc son activité transcriptionnelle, peut aussi être modulée par la phosphorylation par la kinase Akt d'une sérine contenue dans son domaine de liaison à l'ADN (Pekarsky et al., 2001).

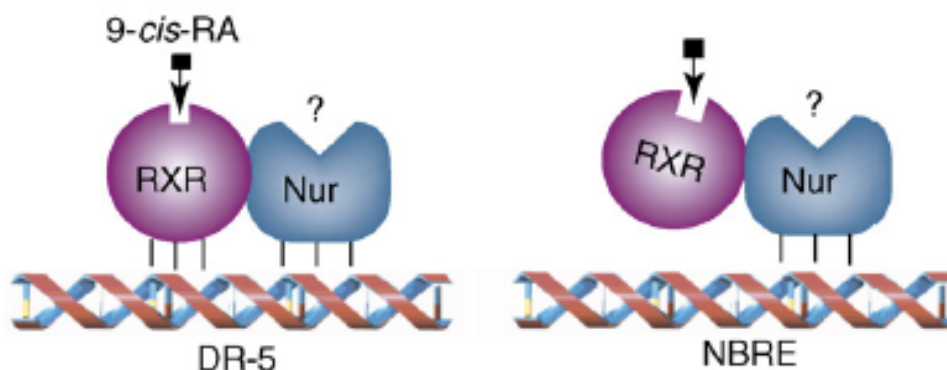


Figure 4 : Schéma des interactions Nur77/RXR pouvant moduler l'activité transcriptionnelle (adapté de Maira M, Philips A et Drouin J, *Médecine/Science*. 14 : 1217-1221, 1998.).

Les études réalisées sur des souris dépourvues de Nur77 par modification génétique ont été d'une aide précieuse afin de déterminer son implication dans les effets secondaires moteurs des antipsychotiques typiques (Lee et al., 1995). Les souris qui n'expriment pas Nur77 montrent une incidence exagérée des VCM (dyskinésie) suite à un traitement avec l'halopéridol et ils présentent même des VCM spontanés, sans aucun traitement (Ethier et al., 2004b). De plus, les ligands pour RXR qui permettent de moduler la réponse dyskinétique n'ont aucun effet sur les souris Nur77 (-/-) (Ethier et al., 2004b). Ces observations suggèrent que Nur77 exerce un effet protecteur sur l'induction de mouvements anormaux et que cet effet peut être modulé par des ligands RXR (possiblement par une interaction Nur77/RXR). Il est connu que la déplétion en dopamine du striatum causé par une lésion cytotoxique des neurones dopaminergiques ou bien le blocage des récepteurs D2 dans le striatum provoque une élévation des niveaux d'enképhaline et de neurotensine (Romano et al., 1987, Gruber et al., 2002, St-Hilaire et al., 2005). Les souris Nur77 (-/-) montrent une réduction de l'induction de ces neuropeptides suivant ces traitements (Ethier et al., 2004a, St-

Hilaire et al., 2006). Nur77 pourrait donc participer à la modulation transcriptionnelle de l'enképhaline et de la neurotensine dans le striatum. Il est aussi intéressant de noter que les niveaux de base des neuropeptides (enképhaline et neurotensine) chez les souris non-traitées ne sont pas diminués par la délétion génétique de Nur77 (Ethier et al., 2004a). Ce dernier semble donc participer à la modulation de l'expression des neuropeptides mais seulement lors de perturbations du fonctionnement normal du système dopaminergique causé par une drogue ou une lésion. Cette modulation pourrait expliquer le rôle protecteur que Nur77 semble avoir sur l'incidence des VCM chez les rongeurs après un traitement chronique avec l'halopéridol.

1.6.2 Le récepteur rétinoïde X

Le récepteur rétinoïde X (RXR) est un membre important de la famille des récepteurs nucléaires parce qu'il forme des hétérodimères avec plusieurs autres facteurs de transcription incluant; le récepteur de l'acide rétinoïque, le récepteur de la vitamine D, le récepteur des hormones thyroïdiennes et bien entendu Nur77 (Rastinejad et al., 2000). Il peut prendre la forme de trois isoformes différents; α , β ou γ , ce dernier étant le plus abondant dans le striatum (Krezel et al., 1999). RXR possède une structure semblable à Nur77, avec deux doigts de zinc qui lui confèrent la spécificité pour ses éléments de réponse, un domaine de liaison pour les ligands et deux domaines de transactivation (Aranda and Pascual, 2001). Il ne possède pas d'extension de son domaine de liaison à l'ADN en C-terminal comme Nur77, il ne peut donc pas se lier sous forme de monomère sur un élément de réponse solitaire. Par contre, il peut se lier à l'ADN sous la forme d'homodimères (Leid et al., 1992) et peut aussi lier des ligands tel que l'acide 9-cis rétinoïque et des acides gras comme l'acide docosahexaénoïque (DHA)(Heyman et al., 1992, de Urquiza et al., 2000). Contrairement au Nur77, RXR active la transcription de façon ligand dépendante (de Urquiza et al., 2000, Wolf, 2006). La relation étroite de RXR avec le système dopaminergique peut être observée par exemple, par des perturbations

comportementales reliées au système dopaminergique observées chez les rats qui présentent des niveaux bas de DHA (agoniste RXR entre autre) durant le développement (Levant et al., 2004), et également par l'activation du promoteur des récepteurs de la dopamine D2 par l'hétérodimère RXR/RAR *in vitro* (Samad et al., 1997). En conséquence, les souris n'exprimant pas RXR (RXR (-/-)) présentent plusieurs dysfonctions du système dopaminergique comme par exemple; une expression diminuée des récepteurs D1 et D2 dans le striatum ventral, une locomotion de base réduite et une diminution de l'effet de la cocaïne sur la locomotion (Krezel et al., 1998).

1.7 HYPOTHÈSE DE RECHERCHE

Les neuropeptides, principalement enképhaline et neurotensine, semblent être des modulateurs importants du système dopaminergique (Albanese and Altavista, 1984, Kelley and Cador, 1988). Cependant, les mécanismes moléculaires qui régulent leur expression dans le striatum suite à un traitement avec les antipsychotiques ne sont pas bien compris. Nous proposons que Nur77, dont l'expression est elle aussi modulée par les antipsychotiques (Maheux et al., 2005), pourrait jouer un rôle important dans l'expression de l'enképhaline et de la neurotensine dans le striatum, possiblement en interagissant avec les promoteurs de ces deux peptides. Trois observations principales appuient cette hypothèse; premièrement, l'ablation génétique de Nur77 mène à une diminution de l'augmentation de l'expression de l'ARNm de ces neuropeptides suite à un traitement avec l'halopéridol (Ethier et al., 2004a), et deuxièmement, l'augmentation de ces neuropeptides normalement observée lors d'une lésion du système dopaminergique avec la 6-hydroxydopamine, est fortement diminuée chez ces souris Nur77 K.O. (St-Hilaire et al., 2006). De plus, des résultats préliminaires non publiés, obtenus par immunoprécipitation de la chromatine, semble montrer une certaine interaction de Nur77 avec des éléments de réponses potentiels présents dans les promoteurs de la proenképhaline et proneurotensine.

Le récepteur nucléaire Nur77 peut former des hétérodimères fonctionnels avec le récepteur rétinoïde X (RXR) et moduler l'expression de gènes spécifiques (Perlmann and Jansson, 1995). En accord avec une modulation de l'activité transcriptionnelle d'un complexe Nur77/RXR, l'agoniste RXR (DHA) réduit, tandis que l'antagoniste RXR (HX531) augmente, les troubles moteurs induits par un traitement chronique à l'halopéridol chez les souris sauvages (modèle de dyskinésie tardive)(Ethier et al., 2004b). L'effet de ces ligands sur les troubles moteurs (VCM) est supprimé chez les souris transgéniques n'exprimant pas Nur77 (Ethier et al., 2004b). L'effet de l'halopéridol sur l'augmentation des VCM est également exacerbé chez ces souris

génétiqnement modifiées (Ethier et al., 2004b). En plus, des études sur des modèles primates de la maladie de Parkinson ont démontré des effets protecteurs de l'agoniste RXR (DHA) sur l'apparition de troubles moteurs secondaires au traitement de cette maladie par la Lévodopa (*levodopa induced dyskinesia* ou LID)(Samadi et al., 2006b). De plus, il semble exister une corrélation inverse entre les niveaux d'expression de Nur77 et l'incidence des LID (Mahmoudi et al., 2009). Ces observations suggèrent qu'une certaine interaction fonctionnelle entre Nur77 et RXR permet la transcription de gènes procurant une protection contre l'expression des effets secondaires moteurs causés par les perturbations du système dopaminergique, qui affectent plus particulièrement, l'équilibre entre les voies directe et indirecte des ganglions de la base.

Notre hypothèse est que, le complexe transcriptionnel Nur77/RXR γ peut interagir avec les promoteurs de la proenképhaline et proneurotensine et ainsi moduler l'expression de ces peptides dans les neurones striatopallidaux de la voie indirecte. Cette expression peut être modulée positivement ou négativement par des ligands RXR ce qui aurait pour effet de modifier la capacité d'adaptation du système des ganglions de la base suite à une lésion ou un traitement pharmacologique. Cette dernière affirmation pourrait donc expliquer les effets comportementaux de ces ligands RXR sur les modèles animaux de dyskinésie tardive. Par exemple, une expression accrue d'enképhaline et de neurotensine dans le striatum aurait un effet protecteur contre l'apparition de mouvements anormaux chez ces animaux.

1.8 OBJECTIFS

Le but principal de mon projet de recherche était d'établir le rôle de Nur77 et de RXR γ dans la modulation transcriptionnelle des neuropeptides enképhaline et neurotensine dans le cerveau de rongeur. La démonstration de ce rôle pourrait ensuite permettre une meilleure compréhension des effets indésirables moteurs et des mécanismes par lesquels les ligands RXR peuvent modifier l'incidence des mouvements anormaux chez des souris traitées avec l'halopéridol.

Pour ce faire, je devais mettre au point la technique d'essais de retard sur gel afin de vérifier l'interaction protéine/ADN de Nur77 et/ou RXR γ sur le promoteur de la proenképhaline. Ensuite, avec une technique d'hybridation *in situ*, je devais vérifier l'effet d'un antagoniste RXR sur l'expression de l'ARNm de la proenképhaline dans le striatum de souris traitées à l'halopéridol. Comme ces souris présentent une augmentation et une aggravation des VCM, l'expression de la proenkephaline devrait y être diminuée pour appuyer notre théorie.

Chapitre II : Résultats

2.1 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1.1 Animaux et traitements

Tous les animaux utilisés ont été manipulés et traités en accord avec les normes du Conseil Canadien de Protection de Animaux et le protocole a été approuvé par Comité de Déontologie de l'Expérimentation sur les Animaux de l'Université de Montréal. Des souris de souche C57BL/6 (Charles River Canada, St-Constant, Qc, Canada) ont été utilisées. Elles ont été traitées avec une dose d'halopéridol (Sandoz, Boucherville, Qc, Canada) (25 mg/kg i.m.) en combinaison avec soit; des injections quotidiennes de saline 0.9% (0,25 ml/jour i.p.) (n=5), ou des injections quotidiennes de HX531 (20 mg/kg/jour i.p.) (n=5) durant 21 jours. Les animaux ont ensuite été sacrifiés par inhalation de CO₂. Les cerveaux ont été retirés rapidement et immédiatement immergés dans de l'isopentane froid (-40°C) quelques secondes avant d'être rangés à -80°C jusqu'à leur utilisation.

2.1.2 Hybridation *in situ*

Chaque cerveau a ensuite été coupé en tranches coronales de 12 um qui ont ensuite été montées sur des lames Snowcoat X-traTM (Surgipath, Winipeg, MA, Canada) et conservées à -80°C jusqu'à leur utilisation.

2.1.2.1 Préparation des sondes

La sonde pour la détection de la proenkephaline a été générée à partir d'un plasmide (pSP64) contenant une partie de l'ADN complémentaire (ADNc) de ce gène chez le rat (935 pb, des nucléotides -104 à 830). Le plasmide a par la suite été digéré avec l'enzyme de restriction SacI. L'ADN linéaire ainsi obtenu a ensuite servi de matrice pour la synthèse d'un simple brin d'ARN complémentaire à la séquence d'ARN de la proenkephaline en utilisant l'ARN polymérase SP6 et un kit de fabrication de ribosondes de Promega (Promega, Madison, Wt) et du [³⁵S]UTP (Perkin-Elmer Inc., Canada). La sonde a ensuite été purifiée avec les colonnes Mini Quick Spin RNA (Roche Diagnostics, Laval, Qc, Canada). L'utilisation de cette sonde radiomarquée pour le tissu de souris a été amplement validée par le passé (Beaudry et al., 2000, St-Hilaire et al., 2003, Ethier et al., 2004a, St-Hilaire et al., 2006).

2.1.2.2 Préhybridation

L'étape de préhybridation a pour but de limiter la dégradation du tissu et le signal non spécifique. Les tissus sont fixés dans une solution contenant 4% de paraformaldéhyde froid, rincés deux fois avec du PBS (phosphate buffered saline) et deux fois avec de l'eau traitée au diéthyl pyrocarbonate (DEPC). Nous incubons ensuite les lames dans une solution contenant du triéthanolamine (TEA) et de l'anhydride acétique. S'en suivent deux lavages au tampon saline-sodium citrate (SSC) et une déshydratation dans trois solutions d'éthanol de concentration croissante.

2.1.2.3 Hybridation

La ribosonde radiomarquée est ajoutée à une concentration de 1.5×10^6 cpm/0,1 ml dans une solution d'hybridation (solution de Denhart, dextran sulfate, formamide

déionisé, ARNt, dithiothréitol (DTT))(Beaudry et al., 2000) et dénaturée 5 minutes à 80°C. Chaque lame est recouverte avec 100µl de cette solution puis une lamelle. L'hybridation est réalisée toute une nuit à 58°C sur une plaque chauffante.

2.1.2.4 Post-traitement

Après l'hybridation les lames sont rincées dans des solutions de SSC 4X pendant 30 minutes et SSC 2X pendant 5 minutes. Les lamelles sont retirées et les lames sont ensuite traitées une heure à 37°C avec une solution de 20µg/ml de RNase, puis, rincées avec de l'eau traitée au DEPC. Les rinçages subséquent sont effectués dans des solutions de SSC de concentration décroissante (SSC 2X 15 minutes, SSC 0,5X à 60°C 30 minutes, SSC 0,1X à 60°C durant 30 minutes, SSC 0,1X 5 minutes). Les lames sont ensuite déshydratées dans trois bains de concentration croissante d'éthanol (30, 60 et 100%), séchées à l'air libre et enfin, exposées sur des film Biomax MR (Kodak, New Haven, CT). Les autoradiogrammes sont développés après 7 jours.

2.1.2.5 Photographie et quantification du marquage

Les autoradiogrammes ont été photographiés à l'aide d'une caméra digitale (Modèle CFW-1612M, Scion Corporation, Md). Les structures du cerveau analysées incluaient les parties dorso-latéral, dorso-médial, ventro-latéral et ventro-médial du striatum. L'intensité du bruit de fond a été déterminée par le marquage du corps calleux et soustrait de chaque mesure prise dans le striatum. La densité optique des mesures a été obtenue à l'aide du logiciel ImageJ (Wayne Rasband, NIH) et ensuite convertie en nCi/g de tissu selon une courbe standard de ^{14}C (ARC 146A-14C standards, American Radiolabeled Chemicals Inc., St-Louis).

2.1.2.6 Analyses statistiques

Pour chaque animal, le niveau d'expression moyen de l'ARNm de la proenkephaline a été déterminé par l'intensité des deux hémisphères sur au moins quatre sections différentes. La mise sur graphique des données et les analyses statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel Prism 5.0 (Graph Pad Software Inc. San Diego, CA, USA). Les données sont exprimées sous la forme de moyenne \pm l'erreur type (S.E.M.) pour 5 animaux par groupes. Un test T non apparié a été utilisé pour déterminer si les variations étaient significatives ($p < 0,05$) pour chacune des zones mesurées.

2.1.3 Essai de retard sur gel

Le protocole utilisé lors des essais de retard sur gel a été développé principalement à partir des travaux de Jacques J. Tremblay (Martin and Tremblay, 2005) et Jacques Drouin (Maira et al., 1999). Brièvement, sauf pour les essais de mise au point, 2 μ l de protéines recombinantes synthétisées avec le système TNT[®] Quick Coupled (Promega, Madison, WI) ont été ajoutés à un tampon de liaison contenant; 10 mM TRIS-HCl (pH 8), 60 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 0.5 mM EDTA, 0,75 mM DTT, 25 ng de poly dI-dC et 6% glycérol. J'ai ensuite utilisé par réaction, \pm 60000 cpm de double brin d'ADN de séquences connues radiomarqués au ³²P. Les sondes ont été marquées à l'aide de la T4 polynucléotide kinase (Invitrogen) et du γ ³²P ATP (Perkin-Elmer Inc., Canada), puis purifiées avec des colonnes Microspin G25 (GE Healthcare, NJ, USA). Le mélange réactionnel fut incubé à 20°C durant 10 minutes avant d'être séparé par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide 4% (60 : 1 acrylamide/bis-acrylamide) avec un tampon 0,5X de Tris-Borate-EDTA durant 2 heures à 180 volt. Pour les essais de « supershift », l'anticorps est ajouté au milieu réactionnel et incubé à 20°C 15 minutes avant l'ajout de la sonde. Pour les essais de compétition avec des oligonucléotides non marqués, ceux-ci sont ajoutés au milieu et incubés 5 minutes à 20°C avant l'ajout de la sonde. Après la migration, les gels sont séchés puis exposés

durant une nuit avec une plaque de détection de stockage du phosphore (Amersham Biosciences Corp, NJ, USA) et l'émission de radioactivité est ensuite révélée avec un numériseur Typhoon 9410 (Amersham Biosciences Corp.) et analysée avec le logiciel ImageQuant (GE Healthcare , NJ, USA).

2.1.4 Synthèse de plasmides et de protéines recombinantes

Les protéines recombinantes utilisées dans les essais de retard sur gel ont été produit par synthèse *in vitro* avec le système TNT[®] Quick Coupled (Promega, Madison, Wt). Il s'agit d'une méthode, de transcription d'ARNm à partir d'un plasmide contenant le promoteur de l'ARN polymérase T7 suivi de l'ADN complémentaire d'une protéine spécifique, puis d'une traduction eukaryotique de protéine à partir de cet ARNm par toute la machinerie traductionnelle d'un lysat de réticulocytes. La procédure consiste simplement à incuber 1 µg de plasmide avec le mélange réactionnel fournis dans le kit, et incuber durant 90 minutes à 30°C.

Les extraits de Nur77 ont été obtenus à partir de trois plasmides différents; pRSET-B (Invitrogen Canada Inc. Burlington, ON) contenant l'ADNc codant Nur77 chez le rat (gracieuseté de Dr. Jacques J. Tremblay) et et pcDNA 3.1(+) zéo contenant l'ADNc de eGFP fusionné en amont de l'ADNc codant Nur77 humain (gracieuseté de Dr. François Denis){de Leseleuc, 2006 #5059}. J'ai également effectué la synthèse du plasmide servant à la fabrication de RXRγ de souris. À partir d'un extrait d'ARN total de striatum de souris, j'ai procédé à une RT (reverse transcriptase) suivie d'un PCR (polymérase chain reaction), avec des amorces spécifiques contenant les sites de restrictions pour les enzymes ApaI et BamHI, afin d'amplifier le brin correspondant à l'ADNc de RXRγ. Les brins ainsi obtenus ont été digérés par les enzymes de restrictions ApaI et BamHI et ensuite insérés dans le plasmide pCRII TOPO (Invitrogen Canada Inc. Burlington, ON) digéré par les mêmes enzymes de restrictions.

2.1.5 Extraction de protéine à partir de tissu de cerveaux

Le fractionnement des protéines nucléaires/cytoplasmiques a été effectué par des tampons à teneur variable en NaCl. Brièvement, les tissus ont été homogénéisés et suspendus dans un tampon contenant; 10 mM HEPES pH 8, 50 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM DTT, 500 mM Sucrose, 0.1 mM EDTA, 0.5% NP-40 ainsi que des inhibiteurs de protéase (PMSF (phénylméthanesulfonyl fluoride), Sodium ortho-vanadate et une tablette d'inhibiteurs de protéase de Roche). Après centrifugation, le surnageant a été retiré et le culot, resuspendu dans un autre tampon de plus forte concentration ionique contenant; 20 mM HEPES pH 8, 420 mM NaCl, 25% glycérol, 0.2 mM EDTA, 1.5 mM MgCl₂, 0.5 mM DTT et les mêmes inhibiteurs de protéase que le tampon précédent. L'extrait protéique nucléaire est obtenu après 15 minutes d'incubation sur glace et une centrifugation.

2.1.6 Anticorps utilisés

Les anticorps utilisés lors des essais de retard sur gel incluaient; anti-Nur77 humain ab-13851 (Abcam, Cambridge, MA), anti-Nur77 de souris M-210 et M210-10X ainsi que anti-RXR γ de souris Y-20 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA).

2.2 RÉSULTATS

Une des premières étapes de ce projet consistait à effectuer une analyse *in silico* du promoteur de la proenkephaline de souris (voir figure 5) et ensuite mettre au point différents paramètres de la technique d'essais de retard sur gel (EMSA). La section 2.2.2 de ce mémoire contient donc quelques exemples d'expériences de mise au point. Les résultats pertinents à l'avancement de ce projet débutent à la section 2.2.3

2.2.1 Analyse *in silico* de la séquence du promoteur proximal de la proenképhaline

La séquence située environ de 750 à 680 bases en amont du site de l'initiation de la transcription est d'intérêt particulier puisqu'elle contient deux éléments de réponse potentiels pour RXR ainsi qu'un élément de réponse potentiels pour Nur77 (NBRE) qui sont situés relativement près l'un de l'autre.

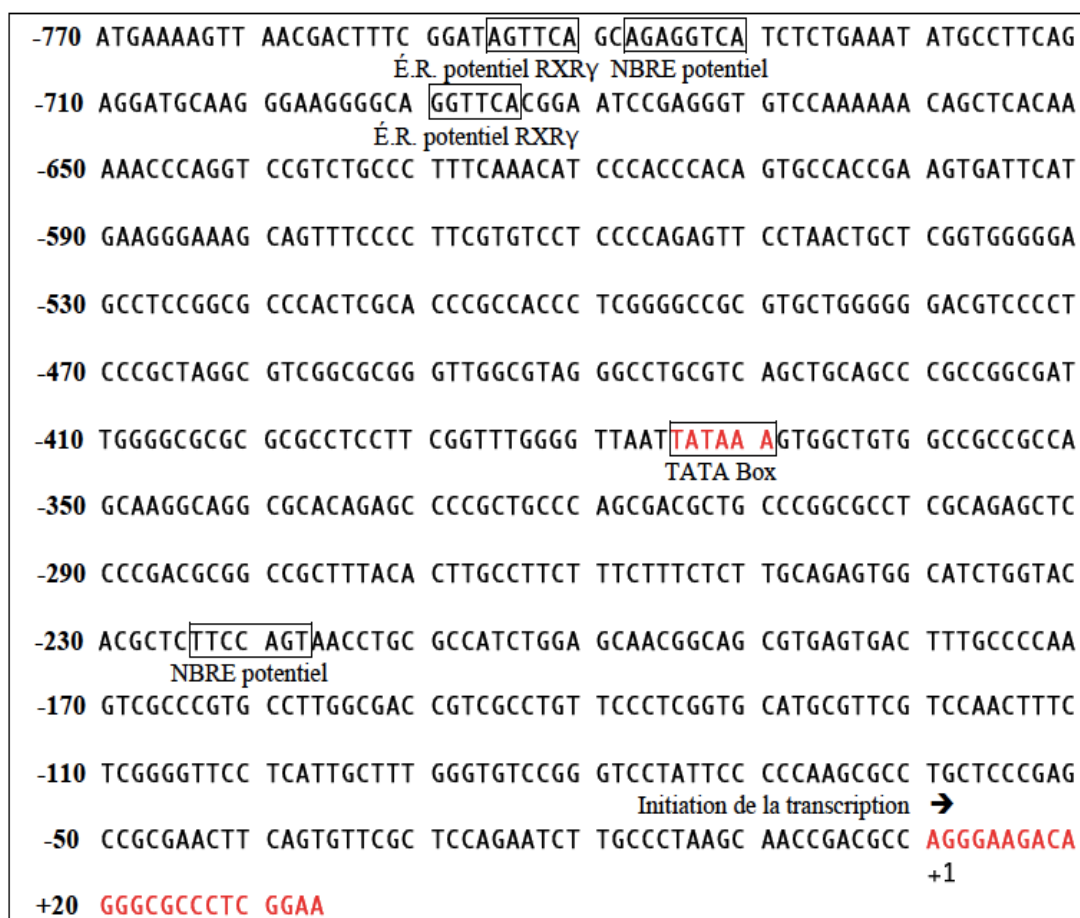


Figure 5 : Analyse *in silico* de la séquence du promoteur proximal de la proenképhaline.

2.2.2 Mise au point de la technique d'essai de retard sur gel

NBRE: 5'-----GATCCTCGTGCGAAAAGGTCAAAGCGCTA-----3'

ENK2: 5'-----GATAGTTCAGCAGAGGTCATCTCTGAAATA-----3'

ENK2 Muté GG: 5'---GATAGTTCAGCAGATTTCATCTCTGAAATA---3'

DR-5 : 5'-----AGCTTTTAGGTCACCGAAAGGTCACTC-----3'

ENK2/3: 5'-----ATAGTTCAGCAGAGGTCATCTCTGAAATATGCCTTC
AGAGGATGCAAGGGAAGGGGCAGGGTTCACGGAATCCGA-----3'

Figure 6 : Séquences du brin sens des différents oligonucléotides utilisés dans les essais de retard sur gel. NBRE représente l'élément de réponse classique des récepteurs nucléaires de la famille des Nurs (en rouge), ENK2 représente une séquence retrouvée dans le promoteur proximal de la proenképhaline et ENK2 Muté GG représente la même séquence mais avec quelques mutations. La séquence DR-5 constitue l'élément de réponse optimal pour l'hétérodimère Nur77/RXR et provient du promoteur du gène du récepteur β de la vitamine A (RAR β). La séquence ENK2/3 provient aussi du promoteur de la proenképhaline et contient la séquence ENK2 en plus d'un élément de réponse potentiel pour RXR (en bleu) qui pourrait un élément de réponse DR-40 potentiel. Les bases soulignées mettent en évidence les mutations par rapport à la séquence NBRE.

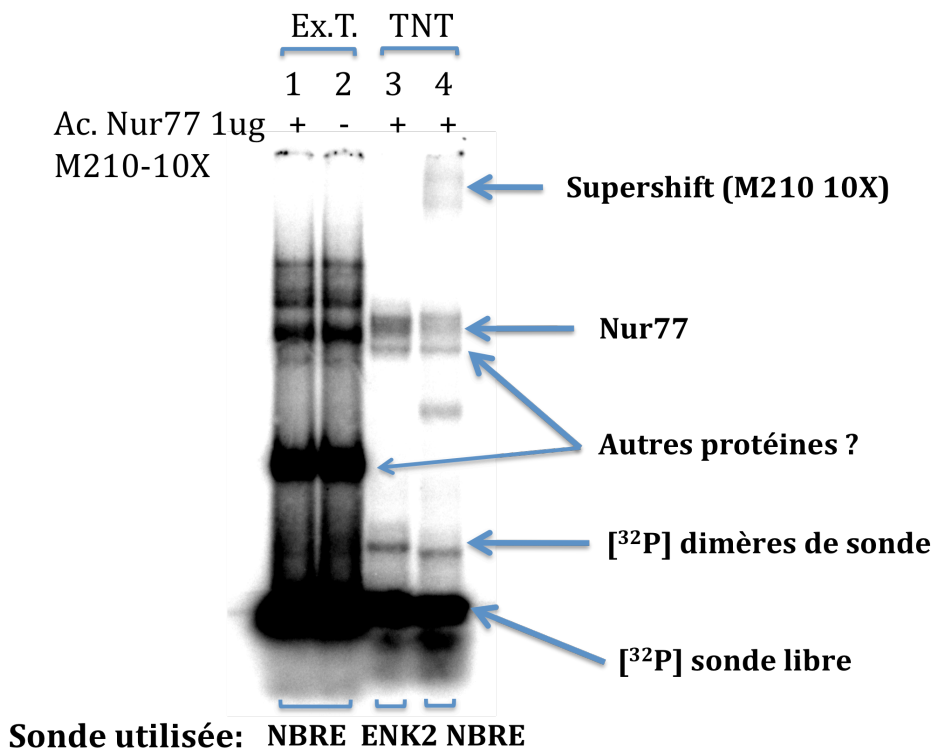


Figure 7 : Explication du choix de l'extrait protéique qui sera utilisé pour les expériences subséquentes. Cette figure représente des essais de retard sur gel effectués, dans les conditions standard décrites dans la section matériels et méthodes, avec soit; la fraction nucléaire d'un extrait protéique provenant de striatum de souris traitées préalablement avec halopéridol (Ex.T.), ou bien un extrait de protéines synthétisées *in vitro* avec le système TNT[®] quick coupled de Promega (TNT). Les essais de « supershift » ont été effectués avec 1 ug d'un anticorps spécifique pour Nur77 (M210 10x).

Ces résultats démontrent que même s'il serait possible de travailler avec l'extrait protéique de tissu, l'utilisation de protéines synthétisées *in vitro* (TNT) donne des essais beaucoup plus « propres » (moins de bandes non spécifiques) et semble demander moins de mise au point afin d'obtenir un signal optimal. De plus, l'essai de « supershift » avec un anticorps spécifique pour Nur77 (M210 10x) a très bien fonctionné avec les protéines recombinantes (TNT) ce qui n'est pas le cas de l'extrait protéique de tissus. Nous ne pouvons donc pas être certain de l'identité des différentes protéines qui se lient à l'ADN dans ces essais avec l'extrait protéique de tissus. Pour ces raisons, nous avons convenu qu'il serait préférable de travailler avec les protéines synthétisées *in vitro* pour les expériences à venir.

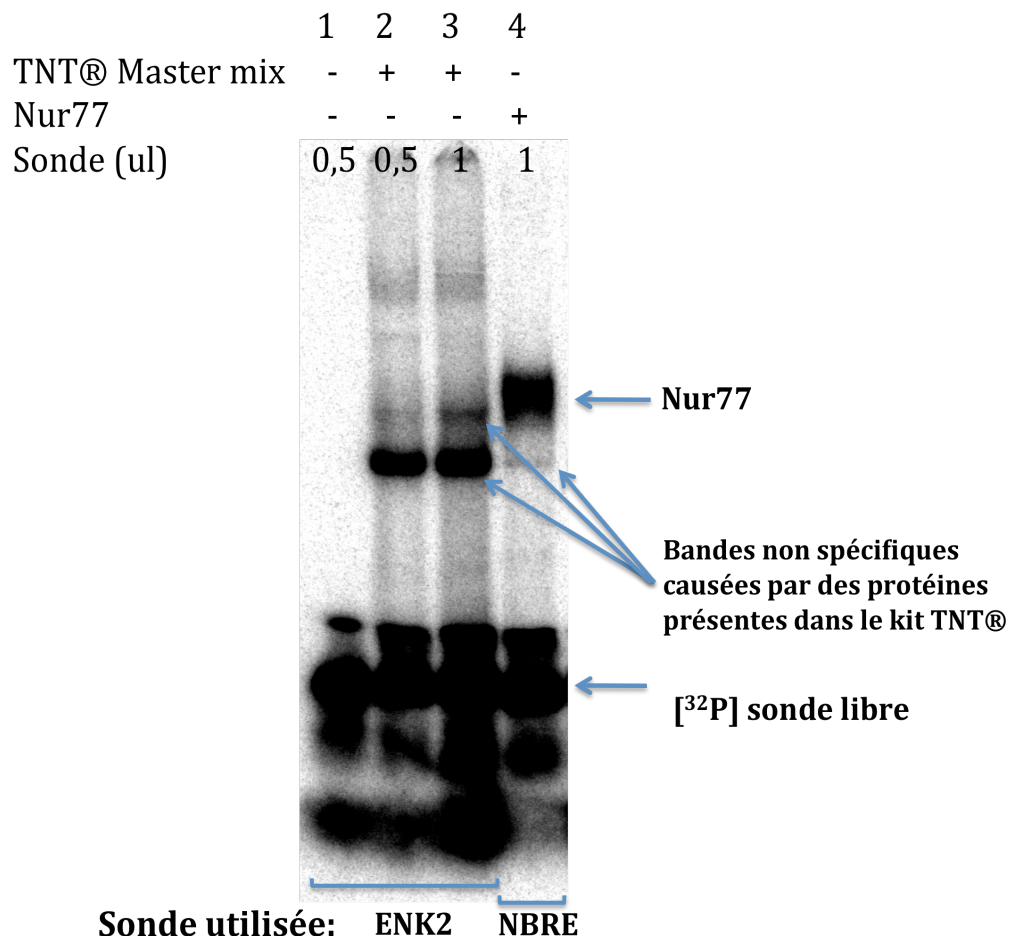
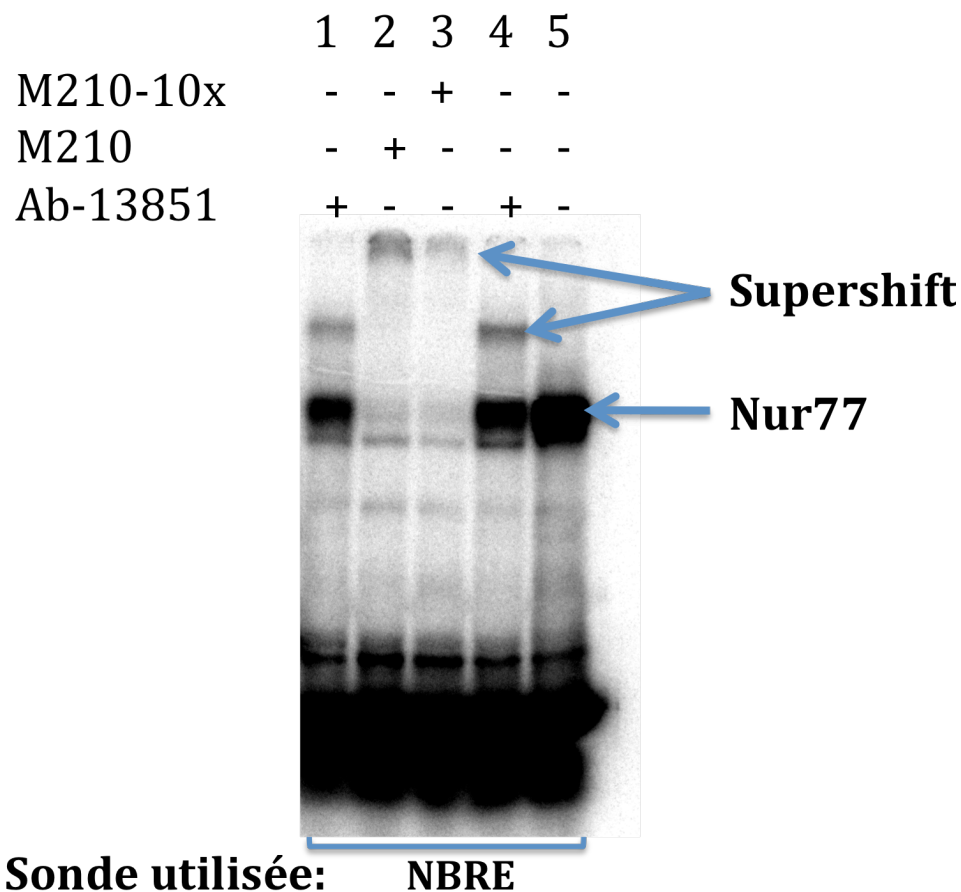


Figure 8 : Signal non spécifique causé par les protéines endogènes du kit de synthèse *in vitro* (TNT). Cette figure représente des essais de retard sur gel effectués, dans les conditions standards décrites dans la section matériels et méthodes, avec soit; un extrait de protéines synthétisées *in vitro* (eGFP-Nur77), ou bien la solution maître du système TNT® sans avoir effectué de synthèse de protéines et préalablement incubé 5 minutes avec 0,2 mg/ml de RNase A.

Ces résultats démontrent que dans les conditions utilisées pour cette expérience, les protéines présentes dans la solution maître du système TNT® (100-200 ug/ul selon le manuel technique de Promega p.12) se lient fortement aux sondes utilisées. Ces complexes migrent presque au même niveau que Nur77 donc, les résultats suivants devront être interprétés avec prudence. L'ajout de RNase A dans cette solution avait pour but d'éliminer les différents ARN présents dans cette dernière (ARN de transfert, ARN ribosomal) qui pourraient eux aussi se lier aux différentes sondes d'ADN utilisées.



M210-10x: Anti-Nur77 10X Santa Cruz (1,4 ug)

M210: Anti-Nur77 Santa Cruz (3 ug)

Ab-13851: Anti-Nur77 Abcam (3,5 ug)

Figure 9 : Détermination de l'anticorps le plus efficace pour effectuer les essais de « supershift ». Ces essais ont été effectués dans les conditions décrites dans la section matériels et méthodes, en utilisant des extraits de Nur77 synthétisé *in vitro* ainsi que trois différents anticorps spécifiques pour Nur77.

Ces résultats démontrent que l'anticorps M210 de Santa Cruz, semble le plus efficace pour provoquer le déplacement du signal causé par la liaison de Nur77 à la sonde d'ADN radiomarquée. L'anticorps Ab-13851 peut lui aussi déplacer ce signal mais de façon incomplète en comparaison avec M-210. Notez que j'ai utilisé chaque anticorps à sa concentration optimale afin de les comparer entre eux, ce qui explique les variations des quantités utilisées.

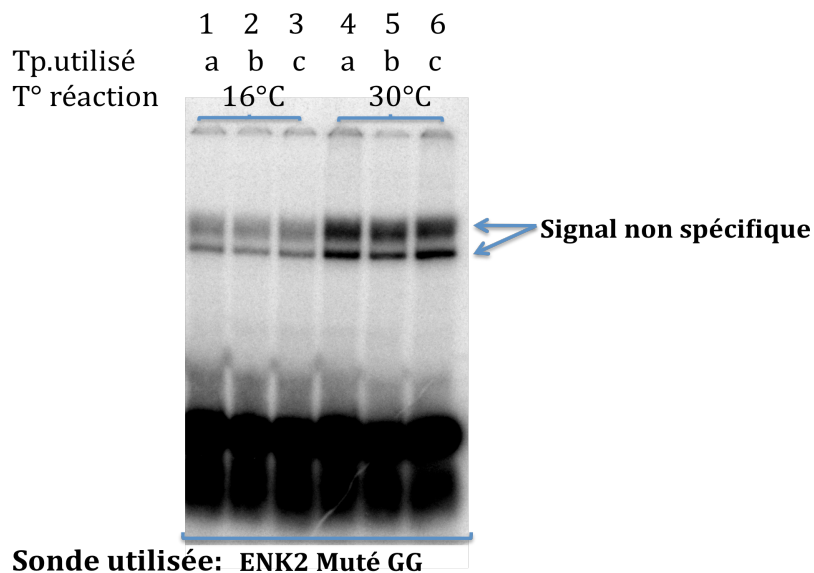


Figure 10 : Effets de la température d'incubation sur la liaison aux sondes radiomarquées des diverses protéines contenues dans les extraits de Nur77 synthétisé *in vitro*. Ces essais ont été réalisés avec les extraits de eGFP-Nur77 recombinant dans différents tampons d'incubation (a,b,c) et en variant la température d'incubation. Composition des tampons :

a) 10 mM TRIS pH8, 40mM KCl, 1mM MgCl₂, 0.5mM EDTA, 0.75mM DTT, 100ug/ml poly DI :DC et 6% glycérol.

b) 5 mM TRIS pH8, 20mM KCl, 0.75mM MgCl₂, 0.5mM EDTA, 0.75mM DTT, 100ug/ml poly DI :DC et 6% glycérol.

c) 5 mM TRIS pH8, 20mM KCl, 1.6 mM MgCl₂, 0.5mM EDTA, 0.75mM DTT, 100ug/ml poly DI :DC et 6% glycérol.

Cette figure démontre un effet important de la température d'incubation sur les interactions protéines/ADN. Lors de ces expériences, j'ai utilisé une sonde contenant un élément de réponse pour Nur77 contenant plusieurs mutations donc, le but était de déterminer les conditions dans lesquels la liaison de mes sondes mutées serait la plus faible. Les bandes obtenues dans cette expérience proviennent probablement des protéines présentes dans le kit de synthèse *in vitro* et non de la liaison de Nur77 avec la sonde d'ADN (voir fig. 8). Cependant, ces résultats sont à considérés avec réserve puisque nous n'avons pas utilisé d'anticorps pour identifier avec certitude les protéines causant le retard sur gel de polyacrylamide. Donc, les variations de la composition en sels des tampons testés lors de cette expérience ne semblent pas assez importantes pour occasionner un changement d'affinité des protéines pour la sonde.

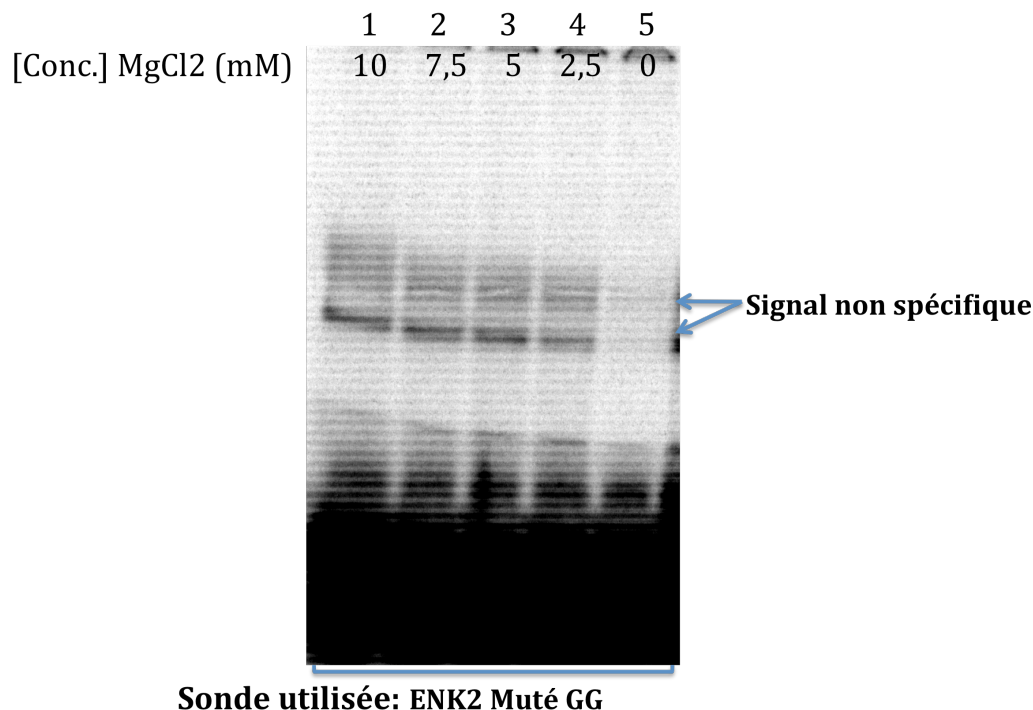


Figure 11 : Effet de la concentration en $MgCl_2$ sur la liaison aux sondes radiomarquées des diverses protéines contenues dans les extraits de Nur77 synthétisé *in vitro*. Ces essais ont été réalisés avec les extraits de eGFP-Nur77 recombinant dans différents tampons d'incubation dans lesquels la concentration en $MgCl_2$ était variable. Composition des tampons (tous identiques sauf pour la concentration en $MgCl_2$) :

5 mM TRIS pH8, 20mM KCl, soit; 10, 7.5, 5, 2.5 ou 0 mM de $MgCl_2$, 0.5mM EDTA, 0.75mM DTT, 100ug/ml poly DI :DC et 10% glycérol.

Ces résultats montrent qu'une grande concentration en $MgCl_2$ exerce un effet stabilisateur sur les liaisons protéines/ADN. Encore une fois, j'utilisais ici une sonde contenant un élément de réponse pour Nur77 contenant plusieurs mutations afin de déterminer les conditions dans lesquels la liaison de mes sondes mutées serait la plus faible. Donc, les bandes obtenues résultent de la liaison des protéines du kit de synthèse *in vitro* (TNT[®]) avec les brins d'ADN radiomarqués (voir fig. 8). Comme cette liaison est indésirable, les expériences subséquentes seront effectuées en utilisant un tampon de liaison contenant moins de 1 mM de $MgCl_2$. Cependant, ces résultats sont à considérer avec réserve puisque nous n'avons pas utilisé d'anticorps pour identifier avec certitude les protéines causant le retard sur gel de polyacrylamide.

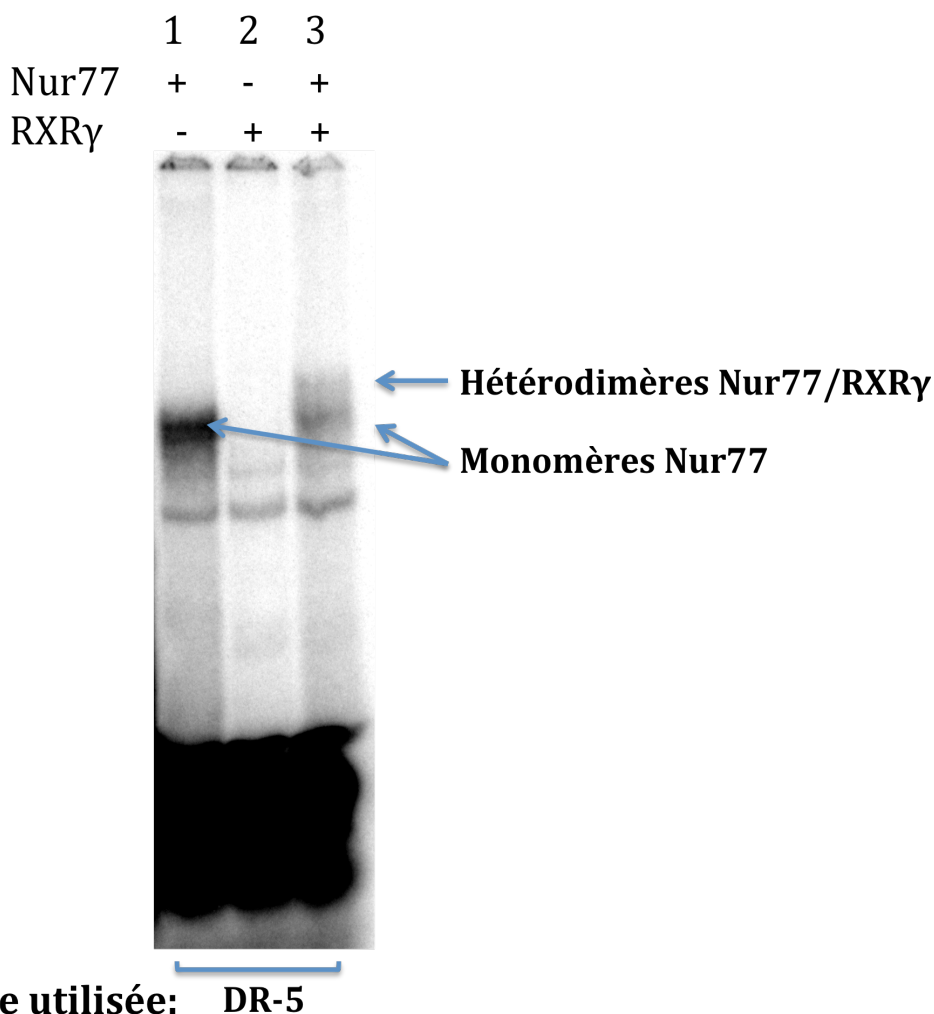


Figure 12 : Formation *in vitro* d'hétérodimères Nur77/RXR γ se liant à un élément de réponse DR-5 (GGTCAnnnnnAGGTCA) provenant du promoteur du gène du récepteur β de la vitamine A (RAR β) (Perlmann and Jansson, 1995). Ces essais ont été effectués dans les conditions décrites dans la section matériels et méthodes en utilisant des extraits de eGFP-Nur77 et de RXR γ synthétisés *in vitro*.

Ces résultats montrent que les protéines synthétisées *in vitro* avec le système TNT[®] de Promega peuvent former des hétérodimères lorsque mis en contact avec un élément de réponse optimal. Ils pourront donc être utilisés pour les expériences suivantes qui viseront à évaluer s'il y a formation d'hétérodimères Nur77/RXR γ sur le promoteur de la proenképhaline. Cependant, ces résultats sont à considérer avec réserve puisque nous n'avons pas utilisé d'anticorps pour identifier avec certitude les protéines causant le retard sur gel de polyacrylamide.

2.2.3 Nur77 se lie *in vitro* à un élément de réponse potentiel présent dans le promoteur proximal de la proenképhaline mais ne semble pas former d'hétérodimères avec RXR γ sur ce même élément de réponse.

Tel que démontré en essai de retard sur gel, Nur77 peut se lier à une séquence retrouvée dans le promoteur de la proenképhaline. L'interaction de Nur77 est toutefois beaucoup plus faible sur cette séquence que sur son élément de réponse classique NBRE. L'identité de Nur77 est confirmée par l'apparition d'une bande migrant moins rapidement (supershift) après l'ajout d'un anticorps, qui lui est spécifique, au milieu réactionnel (fig. 13).

Nur77 ne semble cependant pas former d'hétérodimères avec RXR γ sur cette séquence (fig. 14). Il est toutefois possible que la présence d'un ligand pour RXR soit nécessaire pour favoriser l'interaction des deux récepteurs nucléaires (Cao et al., 2004). La formation d'hétérodimères Nur77/RXR sur la séquence DR-5 a été confirmée cette fois par l'ajout d'un anticorps spécifique à RXR γ .

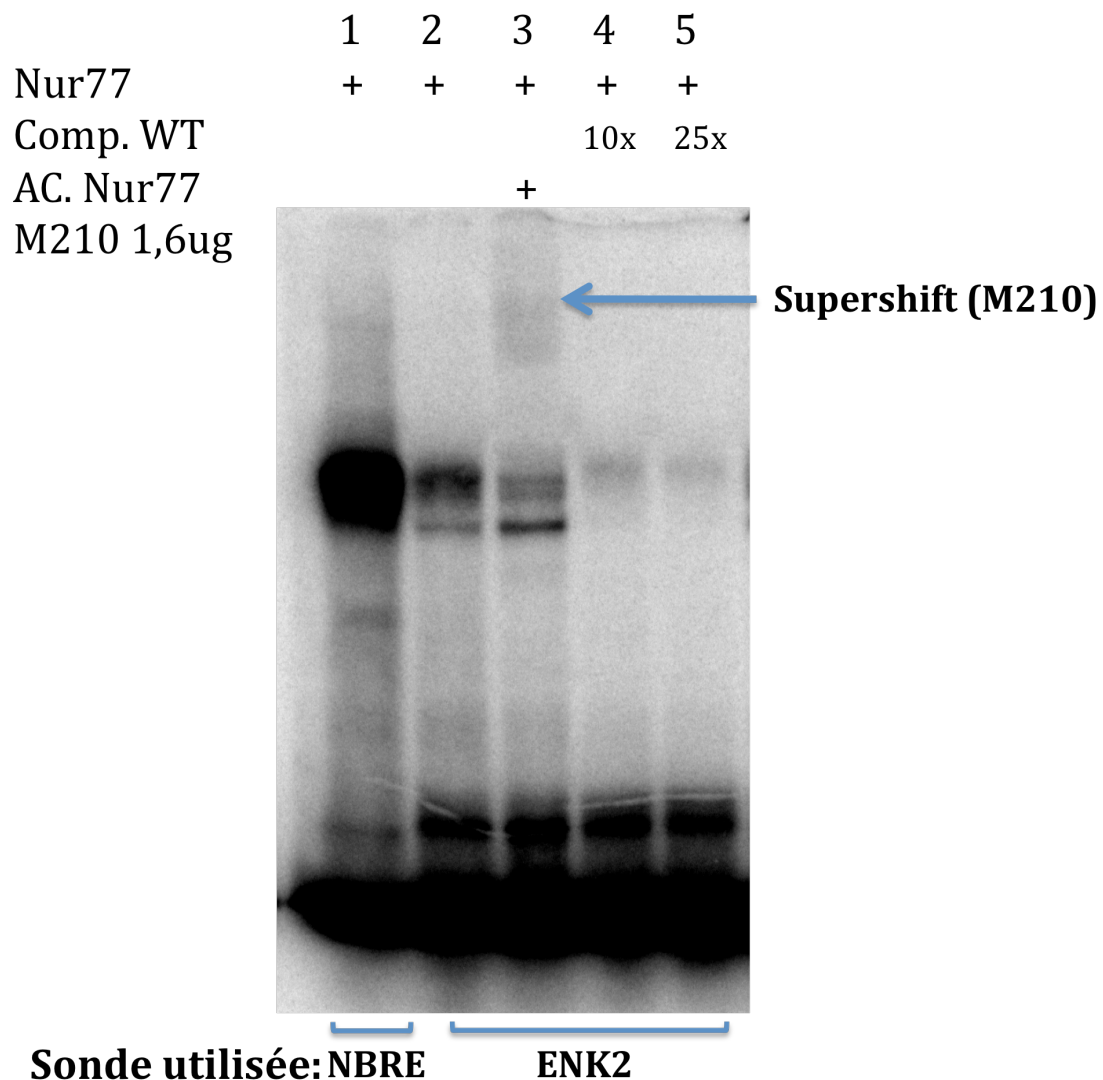


Figure 13 : Liaison de Nur77 à un élément de réponse potentiel situé -730 bases en amont du site de l'initiation de la transcription du gène de la proenképhaline (ENK2). Ces essais ont été effectués dans les conditions décrites dans la section matériels et méthodes en utilisant des extraits de Nur77 synthétisés in vitro et l'anticorps spécifique à Nur77 M210 de Santa Cruz. Les oligonucléotides ENK2 non marqués ont été utilisés en excès (10 et 25 fois la quantité de l'oligonucléotide marqué) pour les essais de compétition.

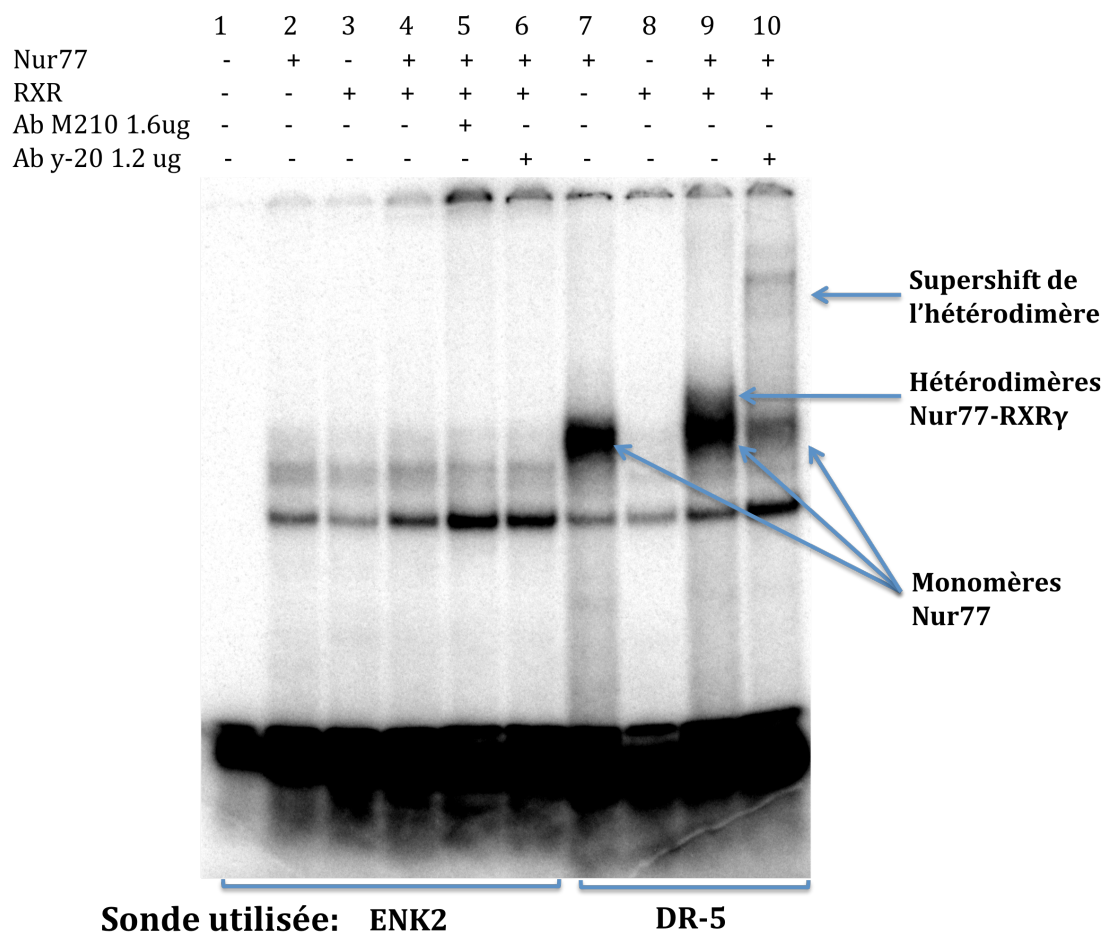
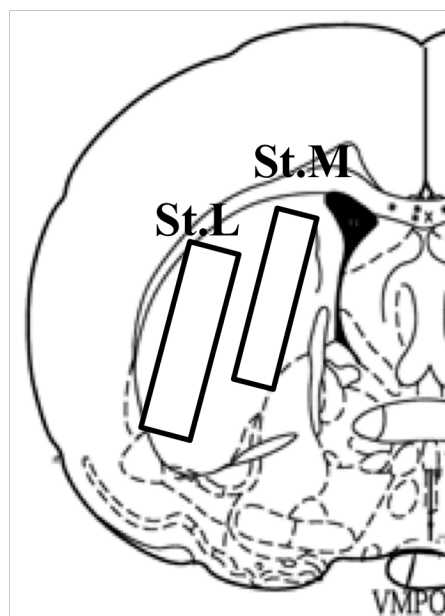


Figure 14 : Nur77 ne semble pas former d'hétérodimères avec RXR γ sur leurs éléments de réponse potentiels situés dans le promoteur proximal de la proenkephaline. Ces essais ont été effectués dans les conditions décrites dans la section matériels et méthodes en utilisant des extraits de eGFP-Nur77 et RXR γ synthétisés in vitro et les anticorps spécifiques, à Nur77 (M210) et à RXR γ (Y-20) de Santa Cruz. L'absence de supershift à la ligne 5, s'explique possiblement par la différence entre la nature de la protéine utilisés lors de cette expérience par rapport à la figure 13 (Nur77 fusionné à eGFP pour la figure 14 et Nur77 seulement pour la figure 13). Pour plus de détail, voir la discussion en page 69 et 70.

2.3.4 Un antagoniste RXR (HX531), réduit l'augmentation des niveaux de proenképhaline par halopéridol dans le striatum.



Bregma -0,30 mm

Figure 15 : Représentation schématique des régions sélectionnées pour l'analyse quantitative de l'expression de l'ARNm de la proenképhaline. St.L. : Striatum Latéral. St.M. : Striatum médial.

L'augmentation des niveaux de l'ARNm de l'enképhaline dans le striatum normalement causée par l'halopéridol est diminuée par un traitement chronique avec un antagoniste de RXR, le HX531 (fig. 16). Cette diminution est statistiquement significative ($p < 0,05$) dans la section latérale du striatum contrairement à sa section médiale malgré qu'une certaine tendance à la baisse puisse être observée dans cette dernière structure.

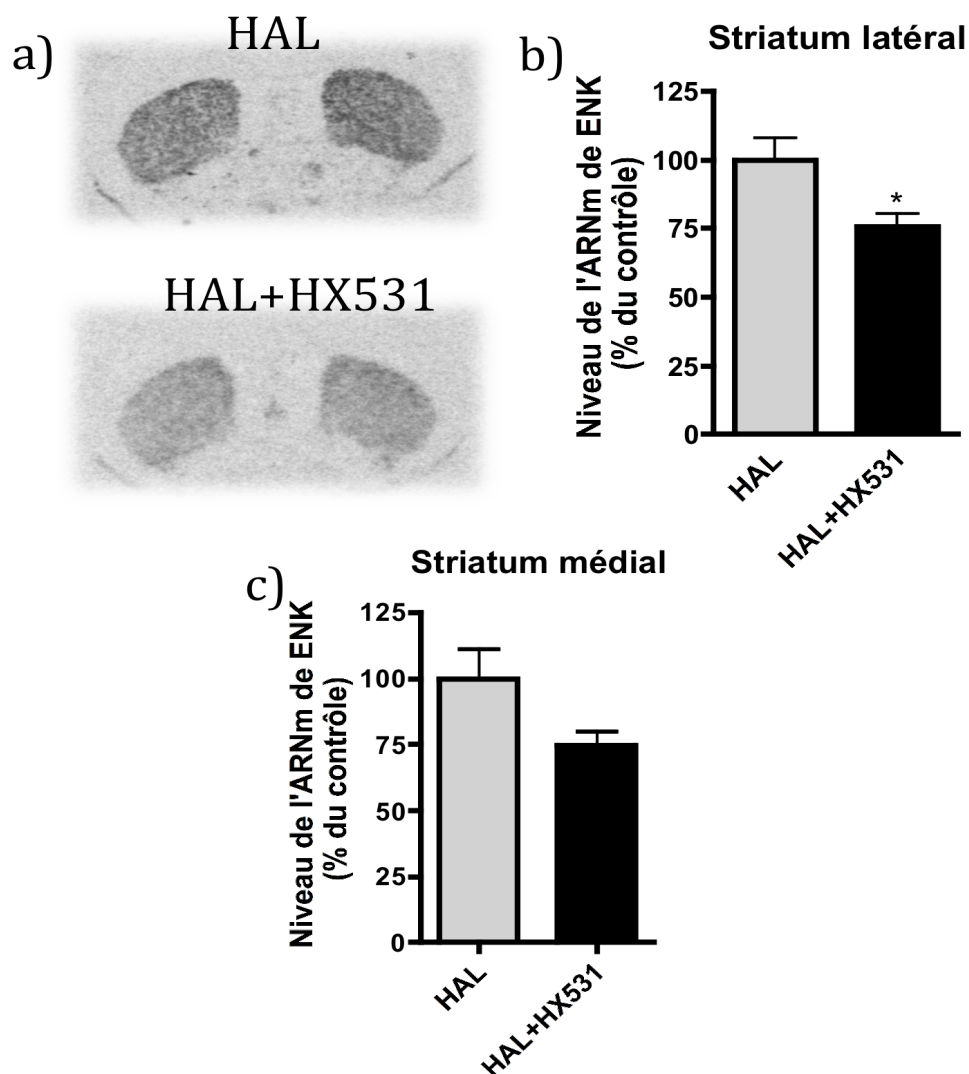


Figure 16 : Diminution de l'augmentation du niveau d'ARNm de proenképhaline par l'halopéridol lors d'un traitement chronique avec l'antagoniste RXR (HX531). Les valeurs sont exprimées en % du groupe contrôle (HAL) et représentent la moyenne de chacun des groupes. (*, $p < 0,05$ vs le groupe contrôle).

Chapitre III : Discussion et perspectives

Nur77/RXR et le promoteur de l'enképhaline

Il est important de garder à l'esprit que l'élément de réponse potentiel pour Nur77 ENK2 (AGAGGTCA) (fig. 6) situé 730 bases en amont de site d'initiation de la transcription de la proenképhaline n'est pas optimal car il contient une variation dans la séquence de tri-adénines en 5' par rapport à l'élément de réponse NBRE (AAAGGTCA). En conséquence, la liaison de Nur77 *in vitro* à la séquence ENK2 s'est avérée plus faible que pour la séquence NBRE ce qui était prévisible (fig. 13). Des résultats préliminaires d'immunoprécipitation de la chromatine (résultats non-publiés) semblent démontrer que cette liaison se produit aussi *in vivo*. Si cette liaison se produit aussi plus faiblement *in vivo*, ce pourrait être une explication pour la modulation différentielle de l'enképhaline par Nur77 selon le niveau de perturbation du système dopaminergique. Selon cette hypothèse, les niveaux de base d'enképhaline ne sont pas modulés par Nur77, possiblement car ce dernier n'est pas exprimé suffisamment dans les neurones de projection du striatum pour interagir avec un élément de réponse sous-optimal. Par contre, après une injection d'halopéridol, l'augmentation de Nur77 dans ces neurones peut atteindre de 400 à 1000% le niveau de base dans la partie latérale du striatum par rapport aux animaux non traités (Maheux et al., 2005). Il est logique de penser qu'une hausse de l'expression de Nur77 aussi importante pourrait permettre son interaction avec de tels éléments de réponse.

L'absence de formation d'hétérodimères Nur77/RXR (fig. 14) sur la séquence ENK2 (voir figure 6) *in vitro* est un peu décevante mais néanmoins, ne remet pas en question notre hypothèse de recherche sur la régulation de la transcription de l'enképhaline. Elle peut être expliquée de plusieurs façons.

Premièrement, les protéines recombinantes (Nur77) que j'ai synthétisé pour cette expérience étaient fusionnées en N-terminal, à la protéine fluorescente eGFP. Une brève revue de la littérature permet de constater que les protéines fluorescentes (GFP, eGFP) peuvent avoir des effets délétères *in vivo* et *in vitro* sur les interactions protéine/protéine causant ainsi une perte des fonctions normales de la protéine de fusion (Huang et al., 2000, Agbulut et al., 2006). Ces protéines (GFP, eGFP) ont une masse importante (GFP=27 kilodalton) donc, il est possible que leur fusion avec de petites protéines affecte le repliement normal de la protéine ou bien masque certains sites de dimérisation. eGFP pourrait aussi affecter l'interaction de Nur77 à l'ADN. Puisque Nur77 se lie relativement faiblement à l'élément de réponse (ENK2) comparativement à l'élément de réponse optimal NBRE (figure 13), il est possible que cette faible interaction soit déstabilisée par la présence de eGFP et rend la visualisation du complexe Nur77/RXR en EMSA, impossible.

Deuxièmement, l'interaction d'un ligand avec le domaine de liaison au ligand (LBD) d'un récepteur nucléaire engendre des modifications de sa structure, et par le fait même, favorise ou défavorise son interaction avec d'autres protéines, qui sont souvent des coactivateurs ou corépresseurs pouvant moduler l'activité transcriptionnelle (Glass et al., 1997, Rastinejad et al., 2000). Les modifications à la structure de RXR causées par le ligand naturel, le 9-cis RA, favorise ainsi l'activité transcriptionnelle (Egea et al., 2000). Il est possible que les modifications à la structure de RXR par un ligand favorisent son interaction avec d'autres récepteurs nucléaires. Pour appuyer cette hypothèse, un groupe a démontré que la présence de ligand pour RXR (9-cis RA et SR11237) est nécessaire à la dimérisation de Nur77 avec RXR α sur un élément de réponse β Rare *in vitro* (Cao et al., 2004). Il serait donc très intéressant de refaire la même expérience qu'à la figure 14 mais cette fois avec un ligand pour RXR.

Troisièmement, l'hétérodimère Nur77/RXR peut exercer ses effets sur la transcription de différentes façons. Sur un élément de réponse DR-5, les deux récepteurs sont liés aux brins d'ADN. Cependant, les agonistes RXR peuvent augmenter l'activité transcriptionnelle (lors d'essais rapporteurs) normalement observée par la liaison de

Nurr1 à l'élément de réponse NBRE (Forman et al., 1995, Sacchetti et al., 2001). Cet effet est expliqué par l'hétérodimérisation de Nurr1 et RXR malgré l'absence d'élément de réponse pour RXR. Comme cette hétérodimérisation implique vraisemblablement une stabilité plus faible sur l'ADN, je n'ai pu trouver des exemples clairs d'EMSA la démontrant dans la littérature. Les évidences du phénomène proviennent principalement d'essais rapporteurs (Forman et al., 1995). C'est pourquoi l'absence d'interaction entre ces deux récepteurs nucléaires à la figure 14, ne permet pas d'éliminer avec certitude la possibilité d'une hétérodimérisation Nur77/RXR sur un élément de réponse NBRE, reconnu par Nur77. De plus, RXR semble avoir un effet répresseur sur l'activité transcriptionnelle induite par la fixation de Nurr1 à son élément de réponse NBRE, effet qui est renversé (activation) par l'ajout d'un agoniste RXR (Aarnisalo et al., 2002). Il est donc possible que dans notre modèle, l'effet transcriptionnel de l'élévation de Nur77 par un traitement avec halopéridol sur la transcription de proenképhaline, soit réprimé par l'interaction avec RXR en l'absence de ligand, et cette répression peut être supprimée par un traitement avec un agoniste RXR (DHA). Bien entendu, il sera nécessaire de clarifier le fonctionnement de ce système par des essais rapporteurs avec la séquence promotrice du gène de la proenképhaline.

Des observations récentes ont permis de démontrer que les acides gras polyinsaturés (acide arachidonique et DHA) pouvait se lier au domaine de liaison au ligand de Nur77 (Vinayavekhin and Saghatelian, 2011). Ces résultats soulèvent des interrogations et pourraient remettre en question quelques points de notre hypothèse concernant l'interaction de Nur77 et RXR pour expliquer les effets du DHA. Des études supplémentaires sont toutefois requises afin de déterminer, quel est l'effet réelle sur la transcription de la liaison du DHA à Nur77 (activateur ou répresseur), et quel est son effet sur les interactions entre les récepteurs nucléaires. Si la liaison du DHA sur Nur77 s'avérait être activateur de la transcription, il serait possible que les effets du DHA sur les dyskinésies n'implique pas obligatoirement RXR mais seulement Nur77. Ce phénomène est tout de même improbable puisque les ligands

RXR qui n'ont pas d'affinités connues pour Nur77 (HX531), sont en mesure de moduler les dyskinésies (Ethier et al., 2004b). Peut-être que les ligands rétinoïques exercent leurs effets pro ou anti-dyskinétiques par l'intermédiaire des deux récepteurs nucléaires à la fois. Bien entendu, tout cela n'est que supposition pour l'instant.

Une autre hypothèse pour expliquer les effets de DHA sur les dyskinésies mérite une attention particulière. Comme le stress oxydatif dans les ganglions de la base est une des causes possibles du développement des dyskinésies, certains groupes croient plutôt que les propriétés antioxydantes de DHA seraient une explication plausible aux effets bénéfiques de cet acide gras (Yavin et al., 2001). Plusieurs autres molécules (Vitamine E, vitamine B, curcumin, mélatonine) ayant ces propriétés ont fait l'objet d'études et plusieurs ont rapporté des effets bénéfiques sur les dyskinésies (Bishnoi et al., 2008, Howland, 2011), tout comme les substances qui piègent les radicaux libre comme l'alpha-phényl-N-tert-butyl-nitron (Daya et al., 2011). Malgré tout, ces évidences n'excluent pas une contribution du DHA à des modifications de l'activité transcriptionnelle.

Alternativement, la séquence promotrice des récepteurs D2 contient des éléments de réponses pour l'hétérodimère RXR/RAR (Samad et al., 1997). L'expression des récepteurs D2 peut possiblement être modulé positivement par les ligands rétinoïques, ce qui pourrait compenser directement leur blocage par l'halopéridol, et ainsi diminuer les effets extrapyramidaux incluant les dyskinésies tardives. Cependant, comme les ligands rétinoïques sont sans effets sur les dyskinésies chez les souris Nur77 (-/-) (Ethier et al., 2004b), il serait étonnant que la régulation des récepteurs D2 par le DHA soit responsable de ses effets anti dyskinétiques.

Nur77/RXR et expression de l'enképhaline : rôle dans la modulation des dyskinésies

Le débalancement des voies de sortie du striatum est responsable de troubles du mouvement tel que la dyskinésie tardive. D'autre part, les neuropeptides ont des effets modulateurs sur plusieurs structures qui composent les ganglions de la base. Il est donc tout à fait logique de croire que la modulation ciblée de ces structures avec des drogues agissant sur les récepteurs des neuropeptides pourrait avoir des effets bénéfiques sur la gravité de ces troubles du mouvement. Notre hypothèse générale de recherche est supportée par les observations découlant de ces expériences. En effet, plusieurs groupes ont rapporté des effets bénéfiques ou néfastes de divers ligands opiacés (injectés par voie systémique) sur la régulation des mouvements. Par exemple, l'agoniste des récepteurs opioïde δ , SNC-80 permet de rétablir l'activité locomotrice normale chez un modèle rongeur de la maladie de Parkinson (Mabrouk et al., 2008). Les antagonistes (naloxone et naltrexone) et agoniste (morphine) non sélectifs des récepteurs opioïdes, respectivement, augmentent ou réduisent les dyskinésies induites par la Lévodopa chez un modèle primate de la maladie de Parkinson (Samadi et al., 2003, 2004).

Des effets semblables ont été rapportés chez l'humain dans un contexte de dyskinésie tardive. Un analogue de l'enképhaline ainsi que la morphine ont montré un faible potentiel afin de réduire les mouvements anormaux de patients dyskinétiques traités avec divers antipsychotiques typiques (halopéridol, chlorpromazine) tandis que le naloxone s'est avéré sans effet (Bjorndal et al., 1980). L'injection de naloxone chez des modèles rongeurs de dyskinésie tardive est sujette à controverse car les résultats sur les VCM sont parfois contradictoires. Certains groupes n'ont pas relevé d'effets bénéfiques du naloxone chez un modèle rongeur de dyskinésie tardive causé par un traitement à l'halopéridol (Egan et al., 1995), alors que d'autres ont montré une amélioration chez des rongeurs traités avec la fluphénazine (un autre antipsychotique typique) (Stoessl et al., 1993). Les interprétations différentes de chaque groupe

concernant les effets moteurs aigus et chroniques d'un traitement aux antipsychotiques typiques pourraient expliquer ces divergences (Egan et al., 1996). Les variations dans le délai entre l'arrêt du traitement avec le neuroleptique et le début du traitement avec les ligands opioïdes peuvent aussi expliquer ces différents résultats.

De manière à clarifier l'apport des structures qui composent les ganglions de la base au phénotype dyskinétique, des injections locales de différents ligands opioïdes ont été testées. Ainsi, il a été démontré que des infusions intra-pallidales d'antagonistes sélectifs pour les récepteurs opioïdes δ ou μ (naltrindole ou CTOP) réduisent la durée des VCM (*vacuous chewing movement*) chez les rongeurs traités avec la fluphénazine (McCormick and Stoessl, 2002). Ce même groupe a également démontré les effets bénéfiques d'un antagoniste des récepteurs opioïdes κ infusé dans la substance noire réticulé ce qui supporte une possible implication de la voie directe dans la modulation des mouvements anormaux causés par le traitement aux antipsychotiques. Les résultats obtenus avec les infusions intra-pallidales de naltrindole ou CTOP sont légèrement confondants pour nous car ils sous entendent que l'augmentation des niveaux d'enképhaline du globus pallidus serait une cause probable des dyskinésies tardives qui peut être bloqué par des antagonistes. Nous soutenons plutôt que l'enképhaline devrait plutôt apporter une protection contre le développement des dyskinésies en limitant le débalancement des voies directes et indirectes.

Notre hypothèse est supportée par des évidences *in vitro* et *in vivo* qui montrent notamment, l'augmentation de la libération d'enképhaline (ENK) dans le globus pallidus secondaire à l'activation des neurones striatopallidaux (Bayon et al., 1981) ainsi que les effets inhibiteurs du neuropeptide sur la libération de GABA dans cette même structure (Maneuf et al., 1994, Stanford and Cooper, 1999, Schroeder and Schneider, 2002). Ces effets contribuent alors à tempérer la suractivation de la voie striatopallidale par le blocage des récepteurs D2. De plus, le lien entre la diminution

d'enképhaline du striatum par le traitement avec HX531 et l'augmentation du score dyskinétique a été établi par notre groupe (voir figure 16) et (Ethier et al., 2004b). Ce modèle implique la libération d'enképhaline à des synapses précises (les terminaisons axonales des neurones striatopallidaux), ce que l'infusion de ligands opioïdes ne peut reproduire, en diffusant dans toute la structure et pouvant avoir un effet sur tous les neurones environnants. Il a déjà été démontré que l'augmentation supérieure du nombre de neurones du striatum exprimant la proenképhaline et non le niveau total du neuropeptide soit une caractéristique propre aux rongeurs qui ne développent pas de VCM suite à un traitement avec halopéridol (Andreassen et al., 1999). Cette observation pourrait signifier que l'enképhaline doit avoir des effets localisés à des synapses spécifiques pour conférer une protection contre les dyskinésies.

La neurotensine (NT) est elle aussi libérée de façon accrue dans le globus pallidus suivant une augmentation de l'activité des neurones striatopallidaux (Castel et al., 1994). Cependant, ses effets sont quelque peu différents de l'enképhaline puisqu'elle agit au niveau postsynaptique dans le globus pallidus en activant directement les neurones de cette structure, dont ceux projetant dans le noyau sous-thalamique (Xue et al., 2007). Une infusion locale de neurotensine dans le globus pallidus semble ainsi réduire les effets moteurs aigus chez les rongeurs traités par l'halopéridol (Xue and Chen, 2010). Nur77 semble impliqué dans l'augmentation des niveaux de neurotensine par halopéridol puisque cette augmentation est diminuée chez les souris Nur77 (-/-) (Ethier et al., 2004a). Tout comme l'enképhaline, son expression suite à un traitement avec l'halopéridol est diminuée par l'antagoniste RXR (Hx531) (données non publiées) ce qui suppose une régulation transcriptionnelle semblable, par Nur77 en combinaison avec RXR. La modulation de Nur77 et son potentiel effet sur l'expression de l'enképhaline (et possiblement la neurotensine) fait ainsi partie d'un mécanisme de régulation qui permet de rehausser ou rétablir les niveaux de neuropeptides (ENK et NT) pour les besoins d'une libération accrue dans le *globus pallidus*.

Pour conclure, mes travaux de maîtrise auront principalement permis de mettre au point la technique d'EMSA pour l'étude de la liaison de Nur77, seul ou en combinaison avec RXR γ , à des séquences d'ADN provenant de promoteurs de divers gènes. J'ai aussi confirmé l'interaction de Nur77 sur un élément de réponse présent dans le promoteur de la proenkephaline et j'ai montré la modulation négative qu'exerce l'antagoniste RXR (HX531), sur l'augmentation de l'expression de proenkephaline dans le striatum de souris par un traitement chronique à l'halopéridol. Bien entendu, la validation de notre hypothèse de recherche nécessite encore de nombreuses expériences (essais rapporteurs, immunoprécipitation de la chromatine), mais permettra à terme, d'expliquer de façon détaillée les effets transcriptionnels des ligands rétinoïques sur les neuropeptides du striatum. Une meilleure compréhension de la régulation de ces gènes pourrait éventuellement mener à la découverte de cible pharmacologique plus spécifique, améliorant ainsi l'efficacité du traitement des dyskinésies tardives.

Références

- Aarnisalo P, Kim CH, Lee JW, Perlmann T (Defining requirements for heterodimerization between the retinoid X receptor and the orphan nuclear receptor Nurr1. *J Biol Chem* 277:35118-35123.2002).
- Agbulut O, Coirault C, Niederlander N, Huet A, Vicart P, Hagege A, Puceat M, Menasche P (GFP expression in muscle cells impairs actin-myosin interactions: implications for cell therapy. *Nat Methods* 3:331.2006).
- Akil H, Watson SJ, Young E, Lewis ME, Khachaturian H, Walker JM (Endogenous opioids: biology and function. *Annu Rev Neurosci* 7:223-255.1984).
- Albanese A, Altavista MC (Neuropeptides in dopamine-containing regions of the brain. *Ital J Neurol Sci* 5:391-404.1984).
- Aleman A, Bocker KB, Hijman R, de Haan EH, Kahn RS (Cognitive basis of hallucinations in schizophrenia: role of top-down information processing. *Schizophr Res* 64:175-185.2003).
- Alessi-Severini S, Biscontri RG, Collins DM, Kozyrskyj A, Sareen J, Enns MW (Utilization and costs of antipsychotic agents: a Canadian population-based study, 1996-2006. *Psychiatr Serv* 59:547-553.2008).
- Allen P, Laroi F, McGuire PK, Aleman A (The hallucinating brain: a review of structural and functional neuroimaging studies of hallucinations. *Neurosci Biobehav Rev* 32:175-191.2008).
- Andreassen OA, Ferrante RJ, Aamo TO, Beal MF, Jorgensen HA (Oral dyskinesias and histopathological alterations in substantia nigra after long-term haloperidol treatment of old rats. *Neuroscience* 122:717-725.2003).
- Andreassen OA, Finsen B, Ostergaard K, Sorensen JC, West MJ, Jorgensen HA (The relationship between oral dyskinesias produced by long-term haloperidol treatment, the density of striatal preproenkephalin messenger RNA and enkephalin peptide, and the number of striatal neurons expressing preproenkephalin messenger RNA in rats. *Neuroscience* 88:27-35.1999).
- Aparasu RR, Bhatara V (Antipsychotic use and expenditure in the United States. *Psychiatr Serv* 57:1693.2006).
- Aranda A, Pascual A (Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev* 81:1269-1304.2001).

- Barch DM (The cognitive neuroscience of schizophrenia. *Annu Rev Clin Psychol* 1:321-353.2005).
- Bayon A, Shoemaker WJ, Lugo L, Azad R, Ling N, Drucker-Colin RR, Bloom FE (In vivo release of enkephalin from the globus pallidus. *Neurosci Lett* 24:65-70.1981).
- Beaudry G, Langlois MC, Weppe I, Rouillard C, Levesque D (Contrasting patterns and cellular specificity of transcriptional regulation of the nuclear receptor nerve growth factor-inducible B by haloperidol and clozapine in the rat forebrain. *J Neurochem* 75:1694-1702.2000).
- Bell MI, Richardson PJ, Lee K (Characterization of the mechanism of action of tachykinins in rat striatal cholinergic interneurons. *Neuroscience* 87:649-658.1998).
- Berczi I, Chalmers IM, Nagy E, Warrington RJ (The immune effects of neuropeptides. *Baillieres Clin Rheumatol* 10:227-257.1996).
- Bishnoi M, Chopra K, Kulkarni SK (Protective effect of Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*) in haloperidol-induced orofacial dyskinesia and associated behavioural, biochemical and neurochemical changes in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* 88:511-522.2008).
- Bjorndal N, Casey DE, Gerlach J (Enkephalin, morphine, and naloxone in tardive dyskinesia. *Psychopharmacology (Berl)* 69:133-136.1980).
- Blomeley CP, Kehoe LA, Bracci E (Substance P mediates excitatory interactions between striatal projection neurons. *J Neurosci* 29:4953-4963.2009).
- Bombin I, Arango C, Buchanan RW (Significance and meaning of neurological signs in schizophrenia: two decades later. *Schizophr Bull* 31:962-977.2005).
- Buckley PF, Miller BJ, Lehrer DS, Castle DJ (Psychiatric comorbidities and schizophrenia. *Schizophr Bull* 35:383-402.2009).
- Bymaster FP, Shannon HE, Rasmussen K, DeLapp NW, Ward JS, Calligaro DO, Mitch CH, Whitesitt C, Ludvigsen TS, Sheardown M, Swedberg M, Rasmussen T, Olesen PH, Jeppesen L, Sauerberg P, Fink-Jensen A (Potential role of muscarinic receptors in schizophrenia. *Life Sci* 64:527-534.1999).
- Cao X, Liu W, Lin F, Li H, Kolluri SK, Lin B, Han YH, Dawson MI, Zhang XK (Retinoid X receptor regulates Nur77/TR3-dependent apoptosis [corrected] by modulating its nuclear export and mitochondrial targeting. *Mol Cell Biol* 24:9705-9725.2004).

- Casey DE (Neuroleptic drug-induced extrapyramidal syndromes and tardive dyskinesia. *Schizophr Res* 4:109-120.1991).
- Casey DE (Tardive dyskinesia and atypical antipsychotic drugs. *Schizophr Res* 35 Suppl:S61-66.1999).
- Casey DE (Tardive dyskinesia: pathophysiology and animal models. *J Clin Psychiatry* 61 Suppl 4:5-9.2000).
- Castel MN, Morino P, Nylander I, Terenius L, Hokfelt T (Differential dopaminergic regulation of the neurotensin striatonigral and striatopallidal pathways in the rat. *Eur J Pharmacol* 262:1-10.1994).
- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G (Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 67:259-284.2005).
- Cheng LE, Chan FK, Cado D, Winoto A (Functional redundancy of the Nur77 and Nor-1 orphan steroid receptors in T-cell apoptosis. *EMBO J* 16:1865-1875.1997).
- Collerton D, Perry E, McKeith I (Why people see things that are not there: a novel Perception and Attention Deficit model for recurrent complex visual hallucinations. *Behav Brain Sci* 28:737-757; discussion 757-794.2005).
- Corbett AD, Henderson G, McKnight AT, Paterson SJ (75 years of opioid research: the exciting but vain quest for the Holy Grail. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1:S153-162.2006).
- Creed M, Hamani C, Nobrega JN (Deep brain stimulation of the subthalamic or entopeduncular nucleus attenuates vacuous chewing movements in a rodent model of tardive dyskinesia. *Eur Neuropsychopharmacol* 21:393-400.2011).
- Creese I, Burt DR, Snyder SH (Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science* 192:481-483.1976).
- Cummings JL, Back C (The cholinergic hypothesis of neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 6:S64-78.1998).
- Davie CA (A review of Parkinson's disease. *Br Med Bull* 86:109-127.2008).
- Davis KL, American College of Neuropsychopharmacology (2002)
Neuropsychopharmacology : the fifth generation of progress : an official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.
Philadelphia: Lippincott/Williams & Wilkins.

- Day R, Lazure C, Basak A, Boudreault A, Limperis P, Dong W, Lindberg I (Prodynorphin processing by proprotein convertase 2. Cleavage at single basic residues and enhanced processing in the presence of carboxypeptidase activity. *J Biol Chem* 273:829-836.1998).
- Daya RP, Tan ML, Sookram CD, Skoblenick K, Mishra RK (Alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron prevents oxidative stress in a haloperidol-induced animal model of tardive dyskinesia: investigating the behavioural and biochemical changes. *Brain Res* 1412:28-36.2011).
- De Hert M, Correll CU, Cohen D (Do antipsychotic medications reduce or increase mortality in schizophrenia? A critical appraisal of the FIN-11 study. *Schizophr Res* 117:68-74.2010).
- de Urquiza AM, Liu S, Sjoberg M, Zetterstrom RH, Griffiths W, Sjoball J, Perlmann T (Docosahexaenoic acid, a ligand for the retinoid X receptor in mouse brain. *Science* 290:2140-2144.2000).
- DeLong MR, Wichmann T (Circuits and circuit disorders of the basal ganglia. *Arch Neurol* 64:20-24.2007).
- Drouin J, Maira M, Philips A (Novel mechanism of action for Nur77 and antagonism by glucocorticoids: a convergent mechanism for CRH activation and glucocorticoid repression of POMC gene transcription. *J Steroid Biochem Mol Biol* 65:59-63.1998).
- Egan MF, Apud J, Wyatt RJ (Treatment of tardive dyskinesia. *Schizophr Bull* 23:583-609.1997).
- Egan MF, Ferguson JN, Hyde TM (Effects of chronic naloxone administration on vacuous chewing movements and catalepsy in rats treated with long-term haloperidol decanoate. *Brain Res Bull* 38:355-363.1995).
- Egan MF, Hurd Y, Ferguson J, Bachus SE, Hamid EH, Hyde TM (Pharmacological and neurochemical differences between acute and tardive vacuous chewing movements induced by haloperidol. *Psychopharmacology (Berl)* 127:337-345.1996).
- Egea PF, Mitschler A, Rochel N, Ruff M, Chambon P, Moras D (Crystal structure of the human RXRalpha ligand-binding domain bound to its natural ligand: 9-cis retinoic acid. *EMBO J* 19:2592-2601.2000).
- Elde R, Hokfelt T (Localization of hypophysiotropic peptides and other biologically active peptides within the brain. *Annu Rev Physiol* 41:587-602.1979).
- Engber TM, Boldry RC, Kuo S, Chase TN (Dopaminergic modulation of striatal neuropeptides: differential effects of D1 and D2 receptor stimulation on

- somatostatin, neuropeptide Y, neurotensin, dynorphin and enkephalin. *Brain Res* 581:261-268.1992).
- Ethier I, Beaudry G, St-Hilaire M, Milbrandt J, Rouillard C, Levesque D (The transcription factor NGFI-B (Nur77) and retinoids play a critical role in acute neuroleptic-induced extrapyramidal effect and striatal neuropeptide gene expression. *Neuropsychopharmacology* 29:335-346.2004a).
- Ethier I, Kagechika H, Shudo K, Rouillard C, Levesque D (Docosahexaenoic acid reduces haloperidol-induced dyskinesias in mice: involvement of Nur77 and retinoid receptors. *Biol Psychiatry* 56:522-526.2004b).
- Fatemi SH, Folsom TD (The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr Bull* 35:528-548.2009).
- Fletcher PC, Frith CD (Perceiving is believing: a Bayesian approach to explaining the positive symptoms of schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 10:48-58.2009).
- Forman BM, Umesono K, Chen J, Evans RM (Unique response pathways are established by allosteric interactions among nuclear hormone receptors. *Cell* 81:541-550.1995).
- Fukushima T, Tsuda M, Kofuji T, Hori Y (Physiological properties of enkephalin-containing neurons in the spinal dorsal horn visualized by expression of green fluorescent protein in BAC transgenic mice. *BMC Neurosci* 12:36.2011).
- George MS, Lisanby SH, Sackeim HA (Transcranial magnetic stimulation: applications in neuropsychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 56:300-311.1999).
- Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ, Jr., Sibley DR (D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250:1429-1432.1990).
- Girault JA, Greengard P (The neurobiology of dopamine signaling. *Arch Neurol* 61:641-644.2004).
- Glass CK, Rose DW, Rosenfeld MG (Nuclear receptor coactivators. *Curr Opin Cell Biol* 9:222-232.1997).
- Goeree R, Farahati F, Burke N, Blackhouse G, O'Reilly D, Pyne J, Tarride JE (The economic burden of schizophrenia in Canada in 2004. *Curr Med Res Opin* 21:2017-2028.2005).
- Goto Y, Grace AA (The dopamine system and the pathophysiology of schizophrenia: a basic science perspective. *Int Rev Neurobiol* 78:41-68.2007).
- Graybiel AM (Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 5:733-741.1995).

- Gruber SH, Nomikos GG, Mathe AA (Effects of haloperidol and risperidone on neurotensin levels in brain regions and neurotensin efflux in the ventral striatum of the rat. *Neuropsychopharmacology* 26:595-604.2002).
- Guillin O, Abi-Dargham A, Laruelle M (Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 78:1-39.2007).
- Hemsley DR, Garety PA (The formation of maintenance of delusions: a Bayesian analysis. *Br J Psychiatry* 149:51-56.1986).
- Herz MI, Lamberti JS, Mintz J, Scott R, O'Dell SP, McCartan L, Nix G (A program for relapse prevention in schizophrenia: a controlled study. *Arch Gen Psychiatry* 57:277-283.2000).
- Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Dyck JA, Stein RB, Eichele G, Evans RM, Thaller C (9-cis retinoic acid is a high affinity ligand for the retinoid X receptor. *Cell* 68:397-406.1992).
- Hornykiewicz O (Dopamine in the basal ganglia. Its role and therapeutic implications (including the clinical use of L-DOPA). *Br Med Bull* 29:172-178.1973).
- Howland RH (Drug therapies for tardive dyskinesia: part 2. *J Psychosoc Nurs Ment Health Serv* 49:17-20.2011).
- Huang WY, Aramburu J, Douglas PS, Izumo S (Transgenic expression of green fluorescence protein can cause dilated cardiomyopathy. *Nat Med* 6:482-483.2000).
- Jablensky A (Epidemiology of schizophrenia: the global burden of disease and disability. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 250:274-285.2000).
- Janecka A, Fichna J, Janecki T (Opioid receptors and their ligands. *Curr Top Med Chem* 4:1-17.2004).
- Javitt DC, Zukin SR (Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148:1301-1308.1991).
- Jones PB, Barnes TR, Davies L, Dunn G, Lloyd H, Hayhurst KP, Murray RM, Markwick A, Lewis SW (Randomized controlled trial of the effect on Quality of Life of second- vs first-generation antipsychotic drugs in schizophrenia: Cost Utility of the Latest Antipsychotic Drugs in Schizophrenia Study (CUtLASS 1). *Arch Gen Psychiatry* 63:1079-1087.2006).
- Kakigi T, Gao XM, Tamminga CA (Drug-induced oral dyskinesias in rats after traditional and new neuroleptics. *J Neural Transm Gen Sect* 101:41-49.1995).

- Kane J, Honigfeld G, Singer J, Meltzer H (Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. *Arch Gen Psychiatry* 45:789-796.1988).
- Kane JM, Correll CU (Past and present progress in the pharmacologic treatment of schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 71:1115-1124.2010).
- Kapur S (Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 160:13-23.2003).
- Kapur S, Remington G (Atypical antipsychotics: new directions and new challenges in the treatment of schizophrenia. *Annu Rev Med* 52:503-517.2001).
- Kapur S, Seeman P (Antipsychotic agents differ in how fast they come off the dopamine D2 receptors. Implications for atypical antipsychotic action. *J Psychiatry Neurosci* 25:161-166.2000).
- Kapur S, Zipursky R, Jones C, Remington G, Houle S (Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry* 157:514-520.2000).
- Kelley AE, Cador M (Behavioral evidence for differential neuropeptide modulation of the mesolimbic dopamine system. *Ann N Y Acad Sci* 537:415-434.1988).
- Kemp R, Kirov G, Everitt B, Hayward P, David A (Randomised controlled trial of compliance therapy. 18-month follow-up. *Br J Psychiatry* 172:413-419.1998).
- Khachaturian H, Watson SJ, Lewis ME, Coy D, Goldstein A, Akil H (Dynorphin immunocytochemistry in the rat central nervous system. *Peptides* 3:941-954.1982).
- Kikuchi T, Tottori K, Uwahodo Y, Hirose T, Miwa T, Oshiro Y, Morita S (7-(4-[4-(2,3-Dichlorophenyl)-1-piperazinyl]butyloxy)-3,4-dihydro-2(1H)-quinolinone (OPC-14597), a new putative antipsychotic drug with both presynaptic dopamine autoreceptor agonistic activity and postsynaptic D2 receptor antagonistic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 274:329-336.1995).
- King DJ (Drug treatment of the negative symptoms of schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 8:33-42.1998).
- Kita H (Globus pallidus external segment. *Prog Brain Res* 160:111-133.2007).
- Knable MB, Weinberger DR (Dopamine, the prefrontal cortex and schizophrenia. *J Psychopharmacol* 11:123-131.1997).

- Konkoy CS, Davis TP (Ectoenzymes as sites of peptide regulation. *Trends Pharmacol Sci* 17:288-294.1996).
- Konkoy CS, Waters SM, Davis TP (Subchronic haloperidol administration decreases aminopeptidase N activity and [Met5]enkephalin metabolism in rat striatum and cortex. *Eur J Pharmacol* 297:47-51.1996).
- Kreitzer AC (Physiology and pharmacology of striatal neurons. *Annu Rev Neurosci* 32:127-147.2009).
- Krezel W, Ghyselinck N, Samad TA, Dupe V, Kastner P, Borrelli E, Chambon P (Impaired locomotion and dopamine signaling in retinoid receptor mutant mice. *Science* 279:863-867.1998).
- Krezel W, Kastner P, Chambon P (Differential expression of retinoid receptors in the adult mouse central nervous system. *Neuroscience* 89:1291-1300.1999).
- Krystal JH, D'Souza DC, Mathalon D, Perry E, Belger A, Hoffman R (NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)* 169:215-233.2003).
- Lang AE, Obeso JA (Challenges in Parkinson's disease: restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough. *Lancet Neurol* 3:309-316.2004).
- Langlois MC, Beaudry G, Zekki H, Rouillard C, Levesque D (Impact of antipsychotic drug administration on the expression of nuclear receptors in the neocortex and striatum of the rat brain. *Neuroscience* 106:117-128.2001).
- Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS, Innis RB (Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:9235-9240.1996).
- Lee SL, Wesselschmidt RL, Linette GP, Kanagawa O, Russell JH, Milbrandt J (Unimpaired thymic and peripheral T cell death in mice lacking the nuclear receptor NGFI-B (Nur77). *Science* 269:532-535.1995).
- Lee T, Kaneko T, Shigemoto R, Nomura S, Mizuno N (Collateral projections from striatonigral neurons to substance P receptor-expressing intrinsic neurons in the striatum of the rat. *J Comp Neurol* 388:250-264.1997).
- Leid M, Kastner P, Lyons R, Nakshatri H, Saunders M, Zacharewski T, Chen JY, Staub A, Garnier JM, Mader S, et al. (Purification, cloning, and RXR identity of the HeLa cell factor with which RAR or TR heterodimerizes to bind target sequences efficiently. *Cell* 68:377-395.1992).

- Levant B, Radel JD, Carlson SE (Decreased brain docosahexaenoic acid during development alters dopamine-related behaviors in adult rats that are differentially affected by dietary remediation. *Behav Brain Res* 152:49-57.2004).
- Leysen JE, Janssen PM, Schotte A, Luyten WH, Megens AA (Interaction of antipsychotic drugs with neurotransmitter receptor sites in vitro and in vivo in relation to pharmacological and clinical effects: role of 5HT2 receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 112:S40-54.1993).
- Li JY, Dahlstrom A (Axonal transport of neuropeptides: Retrograde tracing study in live cell cultures of rat sympathetic cervical ganglia. *J Neurosci Res* 85:2538-2545.2007).
- Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Keefe RS, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J, Hsiao JK (Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med* 353:1209-1223.2005).
- Mabrouk OS, Volta M, Marti M, Morari M (Stimulation of delta opioid receptors located in substantia nigra reticulata but not globus pallidus or striatum restores motor activity in 6-hydroxydopamine lesioned rats: new insights into the role of delta receptors in parkinsonism. *J Neurochem* 107:1647-1659.2008).
- Maheux J, Ethier I, Rouillard C, Levesque D (Induction patterns of transcription factors of the nur family (nurr1, nur77, and nor-1) by typical and atypical antipsychotics in the mouse brain: implication for their mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 313:460-473.2005).
- Mahmoudi S, Samadi P, Gilbert F, Ouattara B, Morissette M, Gregoire L, Rouillard C, Di Paolo T, Levesque D (Nur77 mRNA levels and L-Dopa-induced dyskinesias in MPTP monkeys treated with docosahexaenoic acid. *Neurobiol Dis* 36:213-222.2009).
- Maira M, Martens C, Philips A, Drouin J (Heterodimerization between members of the Nur subfamily of orphan nuclear receptors as a novel mechanism for gene activation. *Mol Cell Biol* 19:7549-7557.1999).
- Malhotra AK, Adler CM, Kennison SD, Elman I, Pickar D, Breier A (Clozapine blunts N-methyl-D-aspartate antagonist-induced psychosis: a study with ketamine. *Biol Psychiatry* 42:664-668.1997).
- Mamo D, Graff A, Mizrahi R, Shammi CM, Romeyer F, Kapur S (Differential effects of aripiprazole on D(2), 5-HT(2), and 5-HT(1A) receptor occupancy in patients with schizophrenia: a triple tracer PET study. *Am J Psychiatry* 164:1411-1417.2007).

- Maneuf YP, Mitchell IJ, Crossman AR, Brothie JM (On the role of enkephalin cotransmission in the GABAergic striatal efferents to the globus pallidus. *Exp Neurol* 125:65-71.1994).
- Martin LJ, Tremblay JJ (The human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/Delta5-Delta4 isomerase type 2 promoter is a novel target for the immediate early orphan nuclear receptor Nur77 in steroidogenic cells. *Endocrinology* 146:861-869.2005).
- Maxwell MA, Muscat GE (The NR4A subgroup: immediate early response genes with pleiotropic physiological roles. *Nucl Recept Signal* 4:e002.2006).
- McCormick SE, Stoessl AJ (Blockade of nigral and pallidal opioid receptors suppresses vacuous chewing movements in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuroscience* 112:851-859.2002).
- McGuire PK, Shah GM, Murray RM (Increased blood flow in Broca's area during auditory hallucinations in schizophrenia. *Lancet* 342:703-706.1993).
- Meinke G, Sigler PB (DNA-binding mechanism of the monomeric orphan nuclear receptor NGFI-B. *Nat Struct Biol* 6:471-477.1999).
- Meltzer HY, Alphas L, Green AI, Altamura AC, Anand R, Bertoldi A, Bourgeois M, Chouinard G, Islam MZ, Kane J, Krishnan R, Lindenmayer JP, Potkin S (Clozapine treatment for suicidality in schizophrenia: International Suicide Prevention Trial (InterSePT). *Arch Gen Psychiatry* 60:82-91.2003).
- Meltzer HY, Massey BW (The role of serotonin receptors in the action of atypical antipsychotic drugs. *Curr Opin Pharmacol* 11:59-67.2011).
- Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC (Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. *J Pharmacol Exp Ther* 251:238-246.1989).
- Meyer JS, Quenzer LF (2005) *Psychopharmacology : drugs, the brain, and behavior*. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, Publishers.
- Mitchell IJ, Cooper AC, Griffiths MR, Cooper AJ (Acute administration of haloperidol induces apoptosis of neurones in the striatum and substantia nigra in the rat. *Neuroscience* 109:89-99.2002).
- Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC (2009) *Molecular neuropharmacology : a foundation for clinical neuroscience*. New York: McGraw-Hill Medical.
- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H (Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res* 24:165-205.2004).

- Nguyen TV, Kosofsky BE, Birnbaum R, Cohen BM, Hyman SE (Differential expression of c-fos and zif268 in rat striatum after haloperidol, clozapine, and amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4270-4274.1992).
- Noback CR (2005) *The human nervous system : structure and function*. Totowa, N.J.: Humana Press.
- O'Donnell BF (Cognitive impairment in schizophrenia: a life span perspective. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 22:398-405.2007).
- Ondo WG, Hanna PA, Jankovic J (Tetrabenazine treatment for tardive dyskinesia: assessment by randomized videotape protocol. *Am J Psychiatry* 156:1279-1281.1999).
- Ossowska K (Neuronal basis of neuroleptic-induced extrapyramidal side effects. *Pol J Pharmacol* 54:299-312.2002).
- Otsuka M, Yoshioka K (Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins. *Physiol Rev* 73:229-308.1993).
- Packard MG, Knowlton BJ (Learning and memory functions of the Basal Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 25:563-593.2002).
- Parent A, Hazrati LN (Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res Brain Res Rev* 20:91-127.1995).
- Paulsen RF, Granas K, Johnsen H, Rolseth V, Sterri S (Three related brain nuclear receptors, NGFI-B, Nurr1, and NOR-1, as transcriptional activators. *J Mol Neurosci* 6:249-255.1995).
- Pekarsky Y, Hallas C, Palamarchuk A, Koval A, Bullrich F, Hirata Y, Bichi R, Letofsky J, Croce CM (Akt phosphorylates and regulates the orphan nuclear receptor Nur77. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:3690-3694.2001).
- Perlmann T, Jansson L (A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9:769-782.1995).
- Pescosolido BA, Monahan J, Link BG, Stueve A, Kikuzawa S (The public's view of the competence, dangerousness, and need for legal coercion of persons with mental health problems. *Am J Public Health* 89:1339-1345.1999).
- Pessoa VF, Monge-Fuentes V, Simon CY, Suganuma E, Tavares MC (The Muller-Lyer illusion as a tool for schizophrenia screening. *Rev Neurosci* 19:91-100.2008).
- Pinnock RD (Neurotensin depolarizes substantia nigra dopamine neurones. *Brain Res* 338:151-154.1985).

- Pritchard LE, White A (Neuropeptide processing and its impact on melanocortin pathways. *Endocrinology* 148:4201-4207.2007).
- Ramachandraiah CT, Subramaniam N, Tancer M (The story of antipsychotics: Past and present. *Indian J Psychiatry* 51:324-326.2009).
- Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR (The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry* 10:434-449.2005).
- Rastinejad F, Wagner T, Zhao Q, Khorasanizadeh S (Structure of the RXR-RAR DNA-binding complex on the retinoic acid response element DR1. *EMBO J* 19:1045-1054.2000).
- Richelson E (Neuroleptic binding to human brain receptors: relation to clinical effects. *Ann N Y Acad Sci* 537:435-442.1988).
- Rico-Villademoros F, Calandre EP (Confounding by indication and the risk of hyperlipidemia in observational studies of antipsychotics. *Am J Psychiatry* 164:525-526; author reply 526.2007).
- Romano GJ, Shivers BD, Harlan RE, Howells RD, Pfaff DW (Haloperidol increases proenkephalin mRNA levels in the caudate-putamen of the rat: a quantitative study at the cellular level using in situ hybridization. *Brain Res* 388:33-41.1987).
- Roth-Deri I, Green-Sadan T, Yadid G (Beta-endorphin and drug-induced reward and reinforcement. *Prog Neurobiol* 86:1-21.2008).
- Sacchetti P, Mitchell TR, Granneman JG, Bannon MJ (Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J Neurochem* 76:1565-1572.2001).
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH (Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017-4026.1999).
- Salzet M, Tasiemski A (Involvement of pro-enkephalin-derived peptides in immunity. *Dev Comp Immunol* 25:177-185.2001).
- Samad TA, Krezel W, Chambon P, Borrelli E (Regulation of dopaminergic pathways by retinoids: activation of the D2 receptor promoter by members of the retinoic acid receptor-retinoid X receptor family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:14349-14354.1997).
- Samadi P, Bedard PJ, Rouillard C (Opioids and motor complications in Parkinson's disease. *Trends Pharmacol Sci* 27:512-517.2006a).

- Samadi P, Gregoire L, Bedard PJ (Opioid antagonists increase the dyskinetic response to dopaminergic agents in parkinsonian monkeys: interaction between dopamine and opioid systems. *Neuropharmacology* 45:954-963.2003).
- Samadi P, Gregoire L, Bedard PJ (The opioid agonist morphine decreases the dyskinetic response to dopaminergic agents in parkinsonian monkeys. *Neurobiol Dis* 16:246-253.2004).
- Samadi P, Gregoire L, Rouillard C, Bedard PJ, Di Paolo T, Levesque D (Docosahexaenoic acid reduces levodopa-induced dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine monkeys. *Ann Neurol* 59:282-288.2006b).
- Schroeder JA, Schneider JS (GABA-opioid interactions in the globus pallidus: [D-Ala2]-Met-enkephalinamide attenuates potassium-evoked GABA release after nigrostriatal lesion. *J Neurochem* 82:666-673.2002).
- Semkovska M, Bedard MA, Stip E ([Hypofrontality and negative symptoms in schizophrenia: synthesis of anatomic and neuropsychological knowledge and ecological perspectives]. *Encephale* 27:405-415.2001).
- Shapiro DA, Renock S, Arrington E, Chiodo LA, Liu LX, Sibley DR, Roth BL, Mailman R (Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacology* 28:1400-1411.2003).
- Shippenberg TS (The dynorphin/kappa opioid receptor system: a new target for the treatment of addiction and affective disorders? *Neuropsychopharmacology* 34:247.2009).
- Shirayama Y, Ishida H, Iwata M, Hazama GI, Kawahara R, Duman RS (Stress increases dynorphin immunoreactivity in limbic brain regions and dynorphin antagonism produces antidepressant-like effects. *J Neurochem* 90:1258-1268.2004).
- Simpson EH, Kellendonk C, Kandel E (A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuron* 65:585-596.2010).
- Siris SG (Suicide and schizophrenia. *J Psychopharmacol* 15:127-135.2001).
- Smith AP, Lee NM (Opioid receptor interactions: local and nonlocal, symmetric and asymmetric, physical and functional. *Life Sci* 73:1873-1893.2003).
- St-Hilaire M, Bourhis E, Levesque D, Rouillard C (Impaired behavioural and molecular adaptations to dopamine denervation and repeated L-DOPA treatment in Nur77-knockout mice. *Eur J Neurosci* 24:795-805.2006).

- St-Hilaire M, Landry E, Levesque D, Rouillard C (Denervation and repeated L-DOPA induce a coordinate expression of the transcription factor NGFI-B in striatal projection pathways in hemi-parkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 14:98-109.2003).
- St-Hilaire M, Landry E, Levesque D, Rouillard C (Denervation and repeated L-DOPA induce complex regulatory changes in neurochemical phenotypes of striatal neurons: implication of a dopamine D1-dependent mechanism. *Neurobiol Dis* 20:450-460.2005).
- Stahl SM (Symptoms and circuits, part 3: schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 65:8-9.2004).
- Stanford IM, Cooper AJ (Presynaptic mu and delta opioid receptor modulation of GABAA IPSCs in the rat globus pallidus in vitro. *J Neurosci* 19:4796-4803.1999).
- Stein G, Wilkinson G, Royal College of Psychiatrists. (2007) *Seminars in general adult psychiatry*. London: Gaskell.
- Steiner H, Gerfen CR (Role of dynorphin and enkephalin in the regulation of striatal output pathways and behavior. *Exp Brain Res* 123:60-76.1998).
- Steiner H, Gerfen CR (Enkephalin regulates acute D2 dopamine receptor antagonist-induced immediate-early gene expression in striatal neurons. *Neuroscience* 88:795-810.1999).
- Steiner H, Tseng K-Y (2010) *Handbook of basal ganglia structure and function*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Stockmeier CA, DiCarlo JJ, Zhang Y, Thompson P, Meltzer HY (Characterization of typical and atypical antipsychotic drugs based on in vivo occupancy of serotonin₂ and dopamine₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 266:1374-1384.1993).
- Stoessl AJ, Polanski E, Frydryszak H (The opiate antagonist naloxone suppresses a rodent model of tardive dyskinesia. *Mov Disord* 8:445-452.1993).
- Tarsy D, Baldessarini RJ (Epidemiology of tardive dyskinesia: is risk declining with modern antipsychotics? *Mov Disord* 21:589-598.2006).
- Thaker GK, Carpenter WT, Jr. (Advances in schizophrenia. *Nat Med* 7:667-671.2001).
- Turrone P, Remington G, Nobrega JN (The vacuous chewing movement (VCM) model of tardive dyskinesia revisited: is there a relationship to dopamine D(2) receptor occupancy? *Neurosci Biobehav Rev* 26:361-380.2002).

- Tzschentke TM (Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog Neurobiol* 63:241-320.2001).
- Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Fisone G, Girault JA (Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci* 32:538-547.2009).
- van Os J, Kapur S (Schizophrenia. *Lancet* 374:635-645.2009).
- Vinayavekhin N, Saghatelian A (Discovery of a Protein-Metabolite Interaction between Unsaturated Fatty Acids and the Nuclear Receptor Nur77 Using a Metabolomics Approach. *J Am Chem Soc.*2011).
- Waldhoer M, Bartlett SE, Whistler JL (Opioid receptors. *Annu Rev Biochem* 73:953-990.2004).
- Warman DM (Reasoning and delusion proneness: confidence in decisions. *J Nerv Ment Dis* 196:9-15.2008).
- Waters SM, Konkoy CS, Davis TP (Haloperidol and apomorphine differentially affect neuropeptidase activity. *J Pharmacol Exp Ther* 277:113-120.1996).
- Wilk S, Watson E, Stanley ME (Differential sensitivity of two dopaminergic structures in rat brain to haloperidol and to clozapine. *J Pharmacol Exp Ther* 195:265-270.1975).
- Williams JT, Christie MJ, Manzoni O (Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. *Physiol Rev* 81:299-343.2001).
- Wolf G (Is 9-cis-retinoic acid the endogenous ligand for the retinoic acid-X receptor? *Nutr Rev* 64:532-538.2006).
- Xue Y, Chen L (Effects of pallidal neurotensin on haloperidol-induced parkinsonian catalepsy: behavioral and electrophysiological studies. *Neurosci Bull* 26:345-354.2010).
- Xue Y, Chen L, Cui QL, Xie JX, Yung WH (Electrophysiological and behavioral effects of neurotensin in rat globus pallidus: an in vivo study. *Exp Neurol* 205:108-115.2007).
- Yavin E, Glozman S, Green P (Docosahexaenoic acid accumulation in the prenatal brain: prooxidant and antioxidant features. *J Mol Neurosci* 16:229-235; discussion 279-284.2001).
- You ZB, Herrera-Marschitz M, Terenius L (Modulation of neurotransmitter release in the basal ganglia of the rat brain by dynorphin peptides. *J Pharmacol Exp Ther* 290:1307-1315.1999).

- Yui K, Ikemoto S, Ishiguro T, Goto K (Studies of amphetamine or methamphetamine psychosis in Japan: relation of methamphetamine psychosis to schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 914:1-12.2000).
- Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T (Dopamine neuron agenesis in *Nurr1*-deficient mice. *Science* 276:248-250.1997).
- Zetterstrom RH, Solomin L, Mitsiadis T, Olson L, Perlmann T (Retinoid X receptor heterodimerization and developmental expression distinguish the orphan nuclear receptors NGFI-B, *Nurr1*, and *Nor1*. *Mol Endocrinol* 10:1656-1666.1996).
- Zhan Y, Du X, Chen H, Liu J, Zhao B, Huang D, Li G, Xu Q, Zhang M, Weimer BC, Chen D, Cheng Z, Zhang L, Li Q, Li S, Zheng Z, Song S, Huang Y, Ye Z, Su W, Lin SC, Shen Y, Wu Q (Cytosporone B is an agonist for nuclear orphan receptor Nur77. *Nat Chem Biol* 4:548-556.2008).

